Aus der Abteilung Cytopathologie
(Leiter: Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer)
des Pathologischen Institutes der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. W. Hort

DIE POLYPLOIDIE DER ZELLKERNE IN LEBER, SCHILDDRÜSE UND SAMENBLASENEPITHEL DES MENSCHEN WÄHREND DER 9. UND 10. LEBENSDEKADE UND SIE BEEINFLUSSENDE FAKTOREN

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
WOLFGANG HEIDE

~~1982~~
1983

UNIV.
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0099

Aus der Abteilung Cytopathologie
(Leiter: Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer)
des Pathologischen Institutes der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. W. Hort

Die Polyploidie der Zellkerne in Leber, Schilddrüse und Samenblasenepithel des Menschen während der 9. und 10. Lebensdekade und sie beeinflussende Faktoren

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

WOLFGANG HEIDE

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.:
Prof. Dr. H.T. Brüster

Referent

gez.: Prof. Dr.Dr. P. Pfitzer

Korreferent

gez.: Prof. Dr. N. Hofmann

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung 1

2. Material und Methode 5
2.1. Histologie 5
2.2. Impulszytophotometrie 5
2.3. Scanning-Zytophotometrie 6

3. Ergebnisse 8
3.1. Leber 8
3.1.1. Pathologisch-anatomische und histopathologische Befunde 8
3.1.2. Ergebnisse der DNA-Messungen 9
3.1.2.1. Scanning-Zytophotometrie 9
3.1.2.2. Impulszytophotometrie 12
3.1.3. Vergleich der Meßergebnisse 17
3.1.4. Beziehungen zu pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunden 18
3.2. Schilddrüse 19
3.2.1. Ergebnisse der selektiven DNA-Messungen 19
3.2.2. Beziehungen zu pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunden 20
3.3. Samenblasenepithel 21
3.4. Vergleich der Ergebnisse in den verschiedenen Organen 22
3.5. Einflüße von Hauptleiden und Todesursachen der Patienten auf die Polyploidie der Zellkerne 23

4. Diskussion 27

5. Zusammenfassung 38

6. Literatur 40

Danksagung 50

Lebenslauf 51

1. EINLEITUNG

Eines der aktuellsten medizinischen Forschungsgebiete in unserer Zeit der hohen Lebenserwartung ist die Biologie des Alterns. Max BÜRGER, der Begründer der deutschen Alternsforschung, verstand rein deskriptiv unter Altern "jede irreversible Veränderung der lebenden Substanz als Funktion der Zeit" (1957). Aus mehr funktioneller Betrachtungsweise sah ROSSMANN "das Wesen der Alterung des Organismus in einer verringerten Anpassungsfähigkeit an veränderte Umweltbedingungen" (1971). FRANKE (1974) und LINZBACH (1975) wiesen besonders auf die gegenseitige Beeinflussung von Altern und Krankheit hin, die sich in einer Zunahme der Anzahl verschiedener Krankheiten des Organismus mit steigendem Lebensalter zeigt. Sie bezeichneten diese geriatrische Phänomen der Multimorbidität als Polypathie.

Dabei stellte sich immer die Frage nach den Ursachen des Alterungsprozesses. ASCHOFF (1930) sah kausale Zusammenhänge zwischen dem Zustand der Blutgefäße und dem Alter. HORT (1971) vertrat die Auffassung, Altern sei wesentlich von genetischen Faktoren betimmt. Nach jüngsten Erkenntnissen der experimentellen Gerontologie soll sich die physiologische Alterung weitgehend im molekularen Bereich abspielen (PLATT und LASCH, 1971), und zwar besonders an den informationstragenden Makromolekülen des Zellkernes. Zum Beispiel vermutete SCHRADER (1971) eine zunehmende Unleserlichkeit des genetischen Codes der DNA im Alter; diese kann bei fehlerhaft oder nicht funktionierendem Reparatursystem über eine Fehleranhäufung bei der Proteinsynthese schließlich zur Fehlerkatastrophe führen, in der die Zellfunktion oder die Zellteilung geschädigt oder falsch gesteuert werden (ORGEL, 1963 und 1970; ZAHN und MÜLLER, 1975). Aus Untersuchungen an Zellkulturen von

Fibroblasten, bei denen sich eine mit dem Alter begrenzte Proliferationsfähigkeit der Zellen zeigt, folgerten viele Autoren, daß die Determinanten des Zellalterns wahrscheinlich im Kern lokalisiert sind (BEHNKE, 1978; HAYFLICK, 1975). Dabei bleibt zu klären, welche altersabhängigen Veränderungen am Zellkern und an den DNA-Molekülen zur aktiven Steuerung des Alterungsvorganges beitragen und welche nur als dessen Begleiterscheinungen aufzufassen sind.

Folgende Veränderungen des Zellkernes wurden mit zunehmendem Lebensalter an Einzelmodellen beobachtet (PAULINI und SONNTAG, 1977):

1. Quantitative Störungen der Zellumsatzrate durch Änderungen der Generationszeiten (SCHMIDT und BENEKE, 1971)
2. Qualitative Störungen des Zellkerns
   a) Kernteilungsspindelstörungen (KLINGE, 1968)
   b) Chromosomenaberrationen (CURTIS et al., 1966)
   c) Karyokinesestörungen (Polyploidisierung)
   d) Zytokinesestörungen
   e) Aneuploidisierung (JACOBS et al., 1961 und 1963)

Gegenstand der vorliegenden Arbeit soll das Phänomen der Polyploidisierung sein, dessen Altersabhängigkeit für verschiedene Organe des Menschen in den letzten Jahrzehnten von mehreren Autoren immer wieder bestätigt wurde (SWIFT, 1950; SWARTZ, 1956; MOHR, 1974; BARZ, 1977; PAULINI, 1977). Das gilt zwar in erster Linie für die Entwicklungszeit des Individuums in den ersten Lebensdekaden, konnte aber auch während des Alterungsprozesses im höheren Lebensalter beobachtet werden. Interessant ist dabei besonders die Frage, ob die Zunahme der Polyploidie mit dem Lebensalter eine Antwort der Zelle auf eine gesteigerte funktionelle Leistung darstellt, also eine

Anpassungsreaktion, wie z.B. bei der Herzhypertrophie des Menschen (SANDRITTER und SCOMAZZONI, 1964; PFITZER, 1971), oder ob sie Folge von Mitosestörungen und somit Ausdruck einer begrenzten Proliferationskapazität der Zellen, also ein Degenerationszeichen ist.

Hier soll nun die Polyploidie der Zellkerne in den höchsten Altersklassen, nämlich in der 9. und 10. Lebensdekade des Menschen untersucht werden, und zwar einerseits an dem obligat polyploiden Organ Leber und andererseits an den fakultativ polyploiden Organen Schilddrüse und Samenblasenepithel. Ähnliche Untersuchungen am Herzmuskel derselben Patienten wurden 1982 von ROSENBERG und PFITZER durchgeführt. Bei der Interpretation der Ergebnisse wollen wir klinische und pathologisch-anatomische Befunde mitberücksichtigen, um dadurch möglichst Aufschluß zu erhalten über Faktoren, die im Rahmen der Polypathie bei alten Menschen die Polyploidisierung beeinflussen könnten. Zum Beispiel stellte sich die Frage, ob ein Zusammenhang besteht zwischen der Polyploidie der Zellkerne und dem Funktionsverlust bzw. den degenerativen Veränderungen der Organe im Alter, für die man bisher zum Teil noch keine ausreichende Erklärung gefunden hat. Ferner ist zu klären, ob im hohen Alter eine weitere Zunahme der Polyploidie stattgefunden hat oder vielleicht vielmehr ein Rückgang, wie dies u.a. für das Altersherz vermutet wurde (ADLER, 1975).

Zur quantitativen DNA-Analyse wurde für die Leberpräparate die Kombination von Scanning- und Impuls- (d.h. Durchfluß-) zytophotometrie angewandt (GORYSCH und PFITZER, 1975; PFITZER et al., 1977). Für die Schilddrüse verzichteten wir wegen des zu erwartenden prozentual geringen Anteils polyploider Zellkerne auf die Impulszytophotome-

trie (GILBERT und PFITZER, 1977), für das Samenblasenepithel erscheint letztere Methode präparatorisch nicht erfolgversprechend.

2. MATERIAL UND METHODE

Von 30 weiblichen und 21 männlichen Patienten im Alter von 80 bis 98 Jahren, Durchschnittsalter 84 Jahre, wurden bei der Autopsie 18 bis 72 Stunden post mortem Gewebestücke aus Leber, Schilddrüse und - bei den 21 männlichen Patienten - Samenblasen entnommen. Es wurden ohne besondere Selektion nahezu alle Fälle von über 80-jährigen Patienten herangezogen, die in dem Sektionsgut des Pathologischen Institutes während 7 Monaten anfielen. Bei 48 der 51 Patienten handelt es sich um Fälle, deren Herzen von ROSENBERG und PFITZER (1982) zytophotometrisch untersucht wurden. Zur Auswertung wurden klinische und pathologisch-anatomische Befunde und Diagnosen den Krankenblättern und Sektionsprotokollen entnommen, die entsprechenden histologischen Präparate wurden nachmikroskopiert.

2.1. Histologie

Von allen frischen Gewebestücken wurde Material für histologische Schnitte in üblicher Weise in Formalin fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin und Elastica-v.-Gieson gefärbt.

2.2. Impulszytophotometrie

Für die DNA-Messungen mit dem Durchflußzytophotometer wurde Material von den Lebergewebsstücken zur Herstellung von Zellsuspensionen in physiologischer NaCl-Lösung mit der Schere zerkleinert, nach Filtration durch eine Doppellage Mull mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und in einer 10-fachen Menge von absolutem Äthylalkohol fixiert, so daß Lagerung möglich war (GILBERT und PFITZER, 1977). Vor den Messungen wurden die fixierten Leberzellsuspensionen nochmals gewaschen, 5 min. lang unter

Schütteln mit 1000 IU Pepsin (Merck) behandelt (BERKHAHN, 1972), anschließend mit 1 %-iger RNase-Lösung versetzt und durch ein Mikrofilter mit 70 x 10^{-6} m Maschenweite filtriert. Daraufhin wurde zu gleichen Teilen mit Ethidiumbromid und Mithramycin gefärbt (BARLOGIE et al., 1979) und außerdem die Suspension 20 sec. mit Ultraschall behandelt, um Verklumpungen zu lösen (GÖHDE et al., 1972; SPRENGER et al., 1973). Nach mindestens 15 min. Einwirkungszeit wurden mit dem ICP 11 (Phywe) mit Hüllstromkammer die Messungen durchgeführt. Für ein Histogramm wurden 50.000 bis 200.000 Impulse registriert. Zur Eichung diente das Histogramm einer Suspension von Hühnererythrozyten mit dem bekannten DNA-Gehalt von 2,3 pg/Zellkern. Die Histogramme wurden per Computer im Institut für Medizin der KFA Jülich statistisch analysiert, wobei den einzelnen Maxima Gauß'sche Normalverteilungen zugeordnet und deren Mittelwert, Standardabweichung und Fläche, bzw. ihr prozentualer Anteil an der Gesamtfläche, angegeben wurde (PFITZER, VYSKA, STECHER, 1976; VYSKA und KRAUSHAAR, 1977; ECKHARDT et al., 1982).

2.3. Scanning-Zytophotometrie

Für die Scanning-Zytophotometrie wurden von allen Gewebsstücken nach der Entnahme jeweils Tupf- und Ausstrichpräparate hergestellt, für 20 bis 30 min. in 96 %-igem Äthanol fixiert, in üblicher Weise mit der FEULGEN-Reaktion bei Kurzzeithydrolyse gefärbt und in Eukitt eingebettet (PFITZER und CAPURSO, 1970). Die Messungen führten wir mit dem ZEISS-Scanningmikroskopphotometer in Kombination mit dem Computer PDP 12 durch. Als Programm diente APAMOS 2. Gemessen wurde bei einer Wellenlänge von 570 x 10^{-9} m und einer Schritt- und Meßblendengröße von 0,5 x 10^{-6} m. Die gemessene Gesamtextinktion des einzelnen Zellkernes, die dessen DNA-Gehalt proportional ist, wurde

in einem Histogramm aufgetragen. Von den FEULGEN-gefärbten Präparaten aus Leber, Schilddrüse und Samenblasenepithel wurden selektive DNA-Messungen (PFITZER und PAPE, 1975; GILBERT und PFITZER, 1977) von 10 normal großen, in der Regel diploiden, und von 10 bis 20 der größten Kerne durchgeführt; als Kontrollwerte dienten jeweils 10 Fibroblasten desselben Präparates, deren Extinktionen in demselben Histogramm von der Abszße nach unten aufgetragen wurden. In einigen wenigen Leberpräparaten mit aneuploiden Kernen wurden wegen der größeren statistischen Genauigkeit 50 bis 100 Zellkerne gemessen. Für die Leber dienten die Scanning-Messungen gleichzeitig der Identifikation der Peaks in den Histogrammen, die wir bei der Impulszytophotometrie erhielten. Darüber hinaus wurden zur Kontrolle der letzteren Methode und zur Erfassung des Prozentsatzes oktoploider Zellkerne 1000 Kerne in jedem von 10 FEULGEN-gefärbten Leberpräparaten mikroskopisch klassifiziert (GILBERT und PFITZER, 1977).

3. ERGEBNISSE

3.1. Leber

3.1.1. Pathologisch- anatomische und histopathologische Befunde

Bei den 51 Lebern (Tab. I) lag in 12 Fällen eine leichte bis mäßiggradige Fibrose, in drei Fällen ein beginnender oder partieller und in vier Fällen ein kompletter, meist feinknotiger zirrhotischer Umbau vor. In einem dieser letztgenannten Fälle, bei dem 82-jährigen Patienten P.S., hatte sich auf dem Boden einer schweren Leberzirrhose ein primäres Leberzellcarcinom entwickelt, das makroskopisch noch nicht zu erkennen war. Ferner fand sich in 28 Fällen histologisch eine Leberzellverfettung; unterteilt man diese nach Menge, Dichte und Größe der intrazellulären Fettropfen in drei Schweregrade, so ergibt sich in 13 Fällen eine geringgradige und in 15 Fällen eine mittel- bis hochgradige Leberzellverfettung, zum Teil mit Fettleberhepatitis. In 24 Fällen wurde eine deutliche subakute bis chronische Blutstauung gefunden und in 12 Fällen eine braune Atrophie. In drei Fällen lagen Lebermetastasen abdomineller Carcinome vor.

Die Lebergewichte lagen zwischen 680 g und 2300 g, der Durchschnittswert beträgt für die Männer 1426 g, für die Frauen 1200 g, der Gesamtdurchschnitt liegt bei 1303 g.

Diagnose	Männer	Frauen	Gesamt
Fettleber	10	18	28
geringgradig	6	7	13
mittel- bis hochgradig	4	11	15
Chron. Blutstauung	11	13	24
Braune Atrophie	2	10	12
Fibrose	4	8	12
Zirrhose	4	3	7
beginnend	1	2	3
komplett	3	1	4
Leberzell-Ca.	1	-	1
Lebermetastasen	2	1	3

Tab. I. Aufschlüsselung der pathologischen Befunde an 51 Lebern

3.1.2. Ergebnisse der DNA-Messungen

3.1.2.1. Scanning-Zytophotometrie

Die Tupf- und Ausstrichpräparate der 51 Lebern enthielten alle eine dominierende Fraktion von diploiden Kernen mit einem DNA-Gehalt von 2C, eine größere Menge von 4C-Kernen mit dem doppelten DNA-Gehalt und unterschiedliche Mengen an 8C-Kernen (Abb. 1a). Dabei bezeichnet "C" (= content) eine DNA-Menge von 3×10^{-12} g, die dem haploiden Chromosomensatz des Menschen entspricht. In 3 der 51 Fälle hatten die größten Kerne einen DNA-Gehalt von 8C (Abb. 2a), in 39 Fällen von 16C (Abb. 1a, 2b, c) und in 9 Fällen

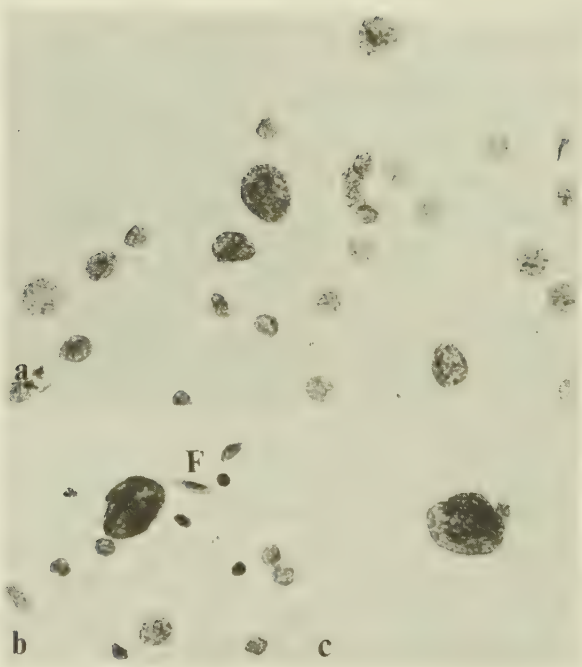


Abb. 1. Zellkerne in Ausstrichpräparaten von Lebergewebe
a. Mehrere 2C-, fünf 4C-, drei 8C- und ein 16C-Kern sowie eine Kette von vier 2C-Kernen.
b. Ein 32C-Kern, rechts oberhalb davon ein Fibroblast (F), daneben mehrere 2C- und ein 4C-Kern.
c. Ein 32C-Kern mit einer Karyoplasma-Ausstülpung.
FEULGEN. 600 x.

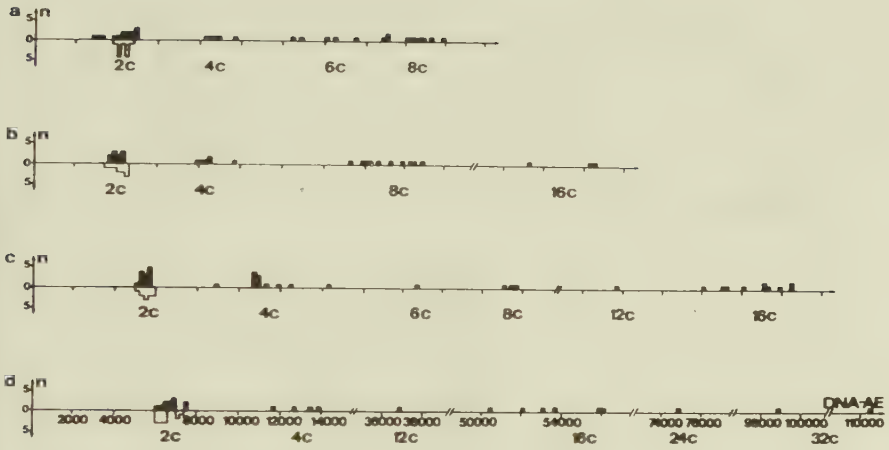


Abb. 2a-d. Selektive Scanning-Histogramme des Lebergewebes

von über 16C; davon hatten ein Fall 24C, 7 Fälle 32C (Abb. 1b, c, 2d) und ein Fall 64C als höchsten DNA-Gehalt der Zellkerne.

Bei einem Vergleich der Höchstwerte (Abb. 3) lassen sich unterschiedliche Ergebnisse für die beiden Geschlechter erkennen: während die meisten Frauen in der linken Hälfte der Abbildung zu finden sind, d.h. bei den niedriger polyploidisierten Lebern, findet man den Großteil der Männer in der rechten Hälfte, also bei den höher polyploidisierten Lebern.

In allen Präparaten waren zahlreiche Doppelkerne aller Ploidiestufen zu sehen, die aus binukleären Zellen stammen und auf abgelaufene mitotische Teilungen hindeuten (Abb. 4a-d). Auch Ketten von mehreren - meist vier - diploiden Kernen kamen vor (Abb. 1a). In nicht wenigen Fällen wurden vereinzelt Werte außerhalb der Reihe 2C, 4C, 8C, 16C gemessen wie 6C-, 12C-, 24C- Kerne (Abb. 2c, d), was mit früheren zytophotometrischen Untersuchungen anderer Organe übereinstimmt. Zum geringeren Teil mag es sich dabei um tetra- bzw. octo- oder hexadecaploide Kerne in der DNA-Synthesephase handeln; da aber gerade diese Zwischenstufen ziemlich häufig zu finden sind, muß man die Mehrzahl von ihnen wie auch die vereinzelt vorkommenden Paare von Kernen unterschiedlichen DNA-Gehaltes als Ergebnisse inkompletter Mitosen oder als Restitutionskerne deuten, die aus gehemmten Mitosen und Fusion benachbarter Telophasefiguren entstanden sein könnten (PFITZER, 1971; GILBERT und PFITZER, 1977).

Eine Ausnahme bildet der Fall des Patienten P.S. mit dem durch die DNA-Messungen entdeckten primären Leberzellcarcinom. Hier fand sich eine große Anzahl polyploider Kerne aller DNA-Klassen bis hin zu 32C, die alle über einen weiten Bereich streuten und ein polymorphes Aussehen

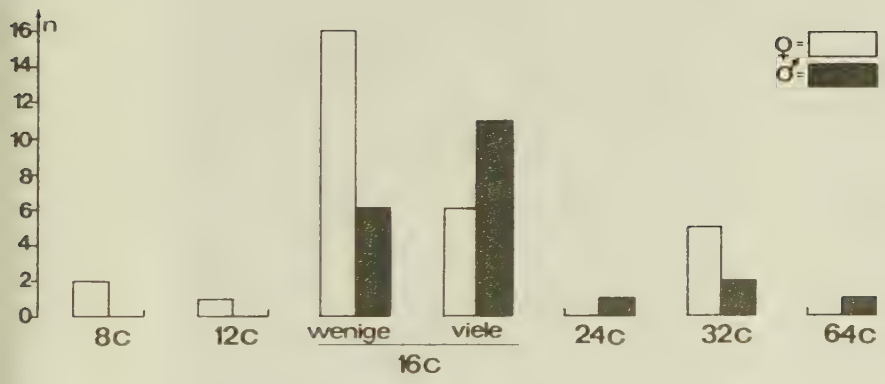


Abb. 3. Ergebnisse der selektiven DNA-Messungen großer Kerne in den Lebern von 50 Patienten.

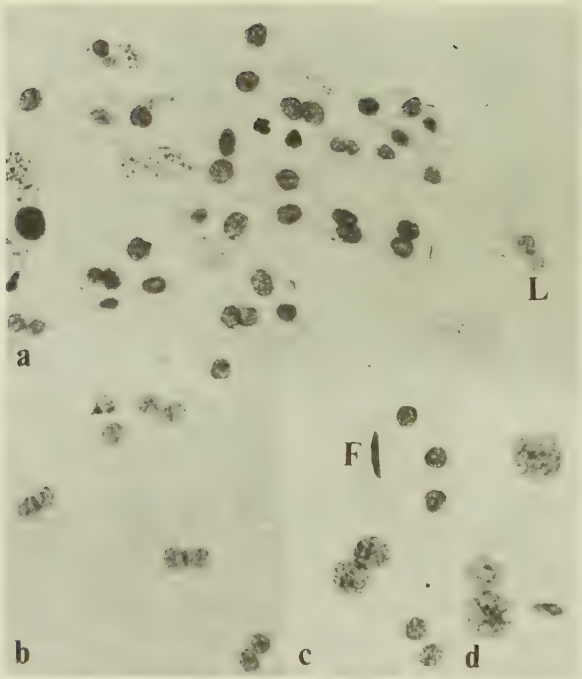
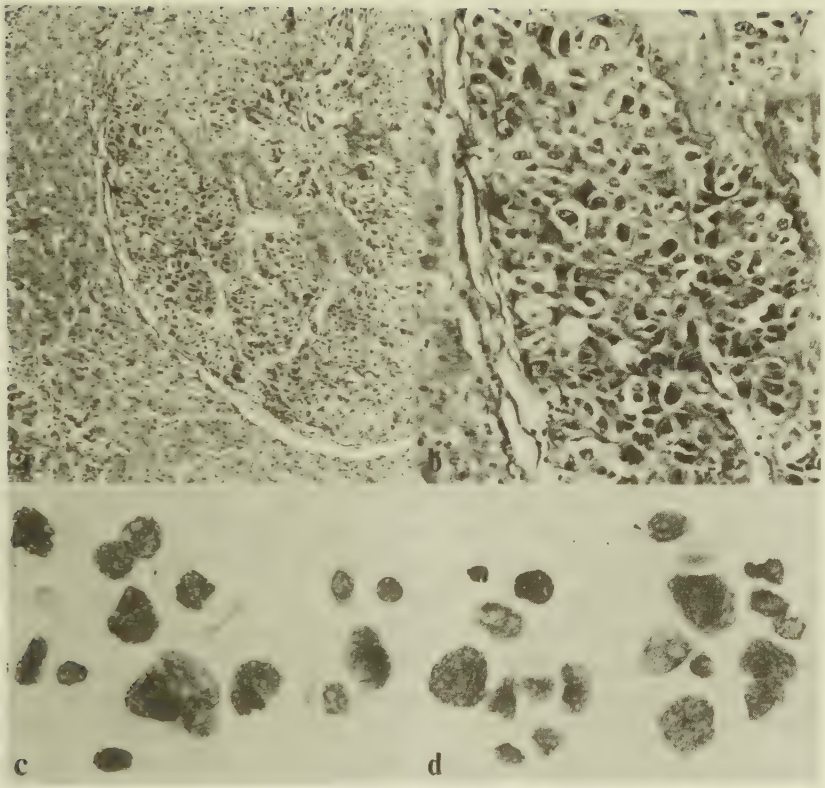
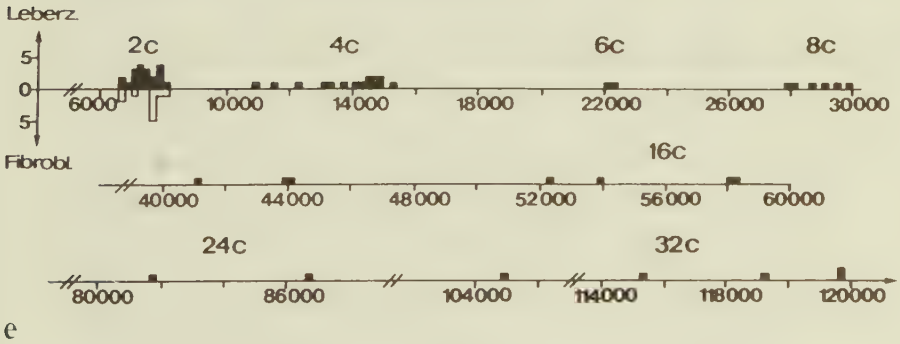


Abb. 4. Kernpaare in Ausstrichpräparaten von Lebergewebe
a. Zweikernige Zellen mit Paaren von 2C- und 4C-Kernen; rechts außen zwei hypodiploide Lysekerne (L).
b. Paare von 2C-Kernen.
c. Paar von 4C-Kernen, daneben 2C-Kerne und ein Fibroblast (F).
d. Ungleiches Paar von je einem 2C- und einem 4C-Kern.
FEULGEN. 600 x.





e

Abb. 5. Primäres Leberzellcarcinom des Patienten P.S.
a-b. Histologische Schnitte. Hämatoxylin-Eosin, a:95 x, b:240 x.
c-d. Ausstrichpräparate mit polymorphen Tumorzellkernen unterschiedlichen DNA-Gehaltes. FEULGEN. 600 x.
e. Selektives Scanning-Histogramm.

hatten (Abb. 5a-e). Es fanden sich ferner Mitosen, zusammenhängende Gruppen großer Zellkerne und viele Kerne mit Nekrosezeichen. Bei diesem Fall konnten aus technischen Gründen leider keine ICP-Messungen durchgeführt werden.

Einige Präparate enthielten Kerne, die Nekrosezeichen wie Pyknose, Karyorrhexis oder Karyolyse aufwiesen. Die hoch polyploiden Kerne schienen davon häufiger betroffen zu sein. In 6 Fällen wurden größere Populationen hypodiploider und hypotetraploider Kerne festgestellt. Zum Teil waren diese Kerne deutlich abgeblaßt (Abb. 4a), d.h. sie hatten - wahrscheinlich aufgrund degenerativer Veränderungen - ein herabgesetztes Farbstoffbindungsvermögen, zum Teil sahen sie aber - abgesehen von der kleineren Kernfläche - unauffällig aus und zeigten eine Gesamtextinktion, die im Durchschnitt bei 75 % des Wertes lag, der für normale di- und tetraploide Kerne zu erwarten gewesen wäre; dabei entsprach das Verhältnis der Gesamtextinktionen (z.B. 3992 : 5637 = 1,42 : 2) ungefähr dem Verhältnis der entsprechenden Kernflächen (in obigem Beispiel 221 : 319 = 1,38 : 2). In einem solchen Fall (Abb. 6d) wurden 100 Kerne gemessen, und es ließ sich mit einer Wahrscheinlichkeit von $p<0,0005$ ein hypodiploides Maximum bei 1,5C beweisen. Diese die Messungen störenden degenerativen Veränderungen kamen besonders häufig in den Lebern solcher Patienten vor, die durch Schock oder protrahiertes Herz-Kreislaufversagen ad exitum gekommen waren. Sie sind also sicher zum großen Teil durch Faktoren der präfinalen Phase , wie zum Beispiel Hypoxie, verursacht worden, was aber nicht ausschließt, daß es sich z.T. auch um postmortale Veränderungen als Folge der vorausgegangenen Schädigung handeln könnte. Eine Korrelation zwischen dem Ausmaß dieser Veränderungen und der Zeitspanne zwischen Exitus letalis und Materialentnahme ließ

sich nicht finden, vermutlich dürften aber auch die Lagerungsbedingungen der Leiche eine wesentliche Rolle spielen.

3.1.2.2. Impulszytophotometrie

Mehr noch als bei der Scanning-Zytophotometrie ergab sich bei der Impulszytophotometrie, wie problematisch gerade bei dem Organ Leber die Verwendung von postmortalem Material ist. In fast allen Fällen zeigte sich in den erhaltenen Histogrammen zu Beginn der Kurven ein mehr oder weniger großer Gipfel mit hyperbelförmigem Abfall, der dem Anteil an zerfallenden Kernen, also dem DNA-Schutt entspricht, wie wir durch die SMP-Messungen bestätigen konnten. Dabei ist es nicht möglich, zwischen prä- und postmortalen degenerativen Veränderungen zu differenzieren. Der Schuttgipfel bildete in 8 Fällen den größten der Kurven und überdeckte zum Teil sogar den 4C-Gipfel, was die quantitative Auswertung recht ungenau gestaltete (Abb. 6e).

Die übrigen ICP-Histogramme (Abb. 6a, 9) hatten alle ihren größten Gipfel bei einem DNA-Gehalt von 2C, der den diploiden Kernen der G_1-Phase entspricht und einen kleinen Gipfel bei 4C, der sowohl durch tetraploide Kerne der G_1-Phase als auch durch diploide der G_2-Phase und durch simultane Messungen von zwei diploiden Kernen der G_1-Phase hervorgerufen wurde. Außerdem wiesen ca. 20 der 50 Histogramme einen kleinen Gipfel bei 6C auf, nur einige Histogramme hatten auch einen ausgeprägten Gipfel bei 8C (Abb. 6a, 9b), bei den anderen wurden diese Gipfel entweder durch den DNA-Schutt überdeckt oder waren infolge der breiten Streuung der unteren Gipfel nicht eindeutig zu erkennen. In einigen Histogrammen wurde der diploide Hauptgipfel durch einen hypodiploiden Vorgipfel überlagert, dessen Mittelwert bei einem DNA-Gehalt von

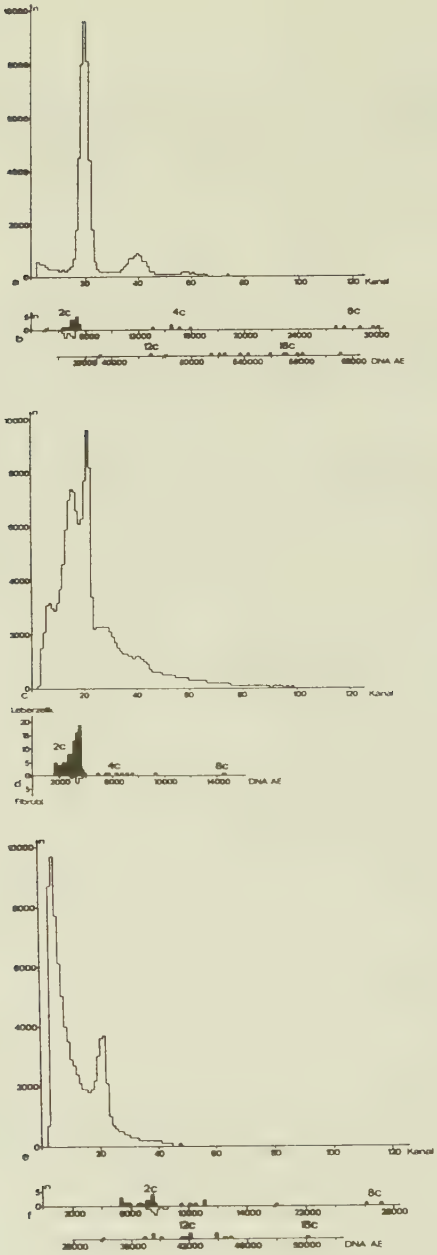


Abb. 6. ICP- und Scanning-Histogramme des Lebergewebes von 3 Patienten.
a-b. Gut erhaltenes Zellmaterial.
c-d. Viele hypodiploide Zellkerne.
e-f. Viel DNA-Schutt.

ungefähr 1,5C lag und der - wie oben diskutiert - durch vermindert anfärbbare Kerne, wahrscheinlich Lysekerne, hervorgerufen wurde (Abb. 6c, d). Entsprechend war in einigen Fällen auch der tetraploide Gipfel zu niedrigeren Werten hin verschoben (Abb. 9d). Auch für diese Phänomene könnten postmortale Veränderungen mitverantwortlich sein.

Von einem der 50 Fälle, einem Patienten mit metastasierendem Pankreaskopf - Carcinom, wurde als Beispiel für ein ICP-Histogramm eines malignen Tumors eine Lebermetastase impulszytophotometrisch untersucht. Es ergab sich ein Histogramm mit zwei aneuploiden Tumor-Stammlinien, die eine bei 2,5C, die andere bei 3,7C (Abb. 7b). Der 2C- und der 4C-Gipfel wurden durch die Tumorgipfel überlagert; mißt man ein Gemisch von Metastasengewebe und normalem Gewebe, so sind alle diese Gipfel deutlich zu sehen (Abb. 7c). Durch die SMP-Messungen an FEULGEN-gefärbten Ausstrichen konnte nur die untere Tumorstammlinie bestätigt werden, die obere fällt mit dem 4C-Gipfel zusammen (Abb. 8).

Alle diese Gipfel der Histogramme wurden durch die statistische Computeranalyse bestätigt, und die ihnen zugeordneten verschiedenen Klassen von Leberzellkernen konnten - wie oben dargelegt - durch die Scanningzytophotometrie verifiziert werden. Nur bezüglich des 6C-Gipfels ließ sich mit dem SMP keine entsprechende Menge von Kernen finden. Dieser Gipfel dürfte also nur zum geringerem Teil durch tetraploide Kerne in der S-Phase oder durch echte hexaploide Kerne hervorgerufen sein. Meist erklärt er sich durch Koinzidenz der Messungen von je einem diploiden und einem tetraploiden Kern oder von drei diploiden Kernen, wahrscheinlich bedingt durch mangelhafte Trennung einzelner Kerne bei der Präparation oder durch zu schnellen Durchfluß bei der Messung.

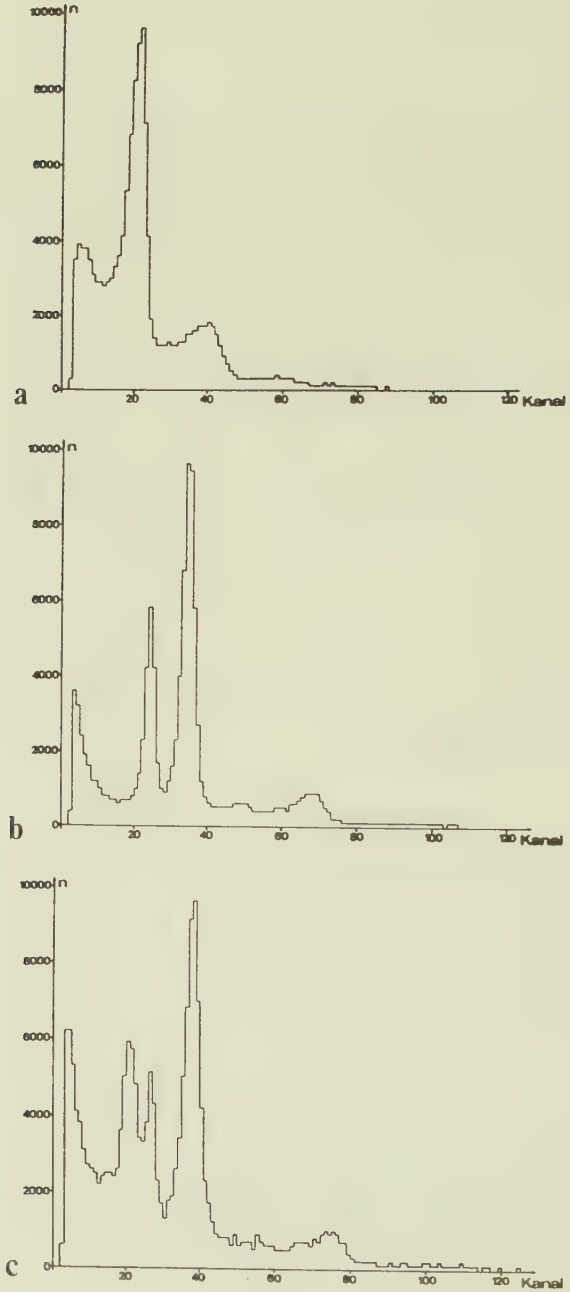


Abb. 7. ICP-Histogramme einer Leber mit Metastasen eines Pankreaskopfcarcinoms, davon
a. nur Lebergewebe,
b. nur Metastasengewebe,
c. Mischung von beiden.

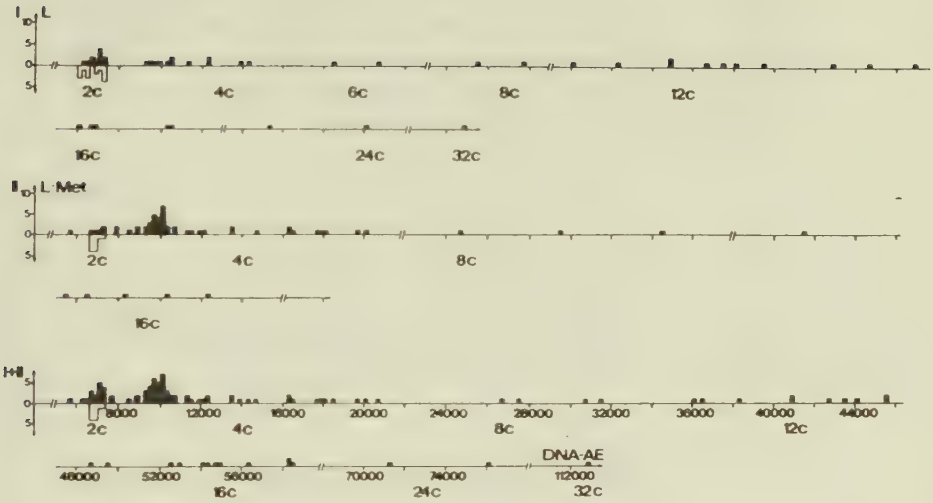


Abb. 8. Selektive Scanning-Histogramme einer Leber mit Metastasen eines Pankreaskopfcarcinoms, davon
I überwiegend Lebergewebe,
II überwiegend Metastasengewebe,
I + II Kombination beider Histogramme.

Die quantitative statistische Analyse der Histogramme durch den Computer ergab nach Subtraktion der DNA-Schutt-Hyperbel bei den 50 Fällen die folgenden durchschnittlichen Werte für die prozentualen Anteile der einzelnen DNA-Klassen, die sich aus den prozentualen Anteilen der Flächen unter den einzelnen Gipfeln, bezogen auf die Fläche unter der Gesamtkurve, ergeben:

	Männer	N	Frauen	N	Gesamt	N
% 4C	16,9 ± 4,7	20	19,7 ± 6,9	30	18,6 ± 6,2	50
% (6C + 8C)	7,2 ± 5,3	20	7,8 ± 6,2	30	7,5 ± 5,8	50
% 8C	2,6 ± 2,8	17	3,5 ± 3,3	24	3,1 ± 3,0	41
% > 2C	24,1 ± 9,5	20	27,5 ± 11,3	30	26,1 ± 10,5	50

Tab. II. Prozentuale Anteile der verschiedenen Klassen von Zellkernen. N = Anzahl der Fälle.

Es erschien uns nicht sinnvoll, den prozentualen Anteil der 2C-Kerne anzugeben, weil dieser nicht nur die diploiden Leberzellkerne beinhaltet, sondern auch die in der Regel diploiden Zellkerne aller anderen Zellarten, die in der Leber vorkommen, wie z.B. Fibroblasten, Lymphozyten, Makrophagen, Gallengangsepithelien u.a.. Der prozentuale Anteil an polyploiden Kernen wies beträchtliche interindividuelle Schwankungen auf (Abb. 9b, c). Dabei lag der Anteil an 4C-Kernen zwischen 4 % und 38 % und betrug durchschnittlich 18,6 ± 6,2 %, der Anteil an 6C- und 8C-Kernen schwankte zwischen 0 % und 23 %; der durchschnittliche Wert von 7,5 ± 5,8 % ist überraschend hoch und kann wegen des hohen 6C-Anteiles aus den oben dargelegten Gründen nur bedingt verwertet werden. Der 8C-Anteil konnte nur in 41 Fällen isoliert bestimmt werden und betrug durchschnittlich 3,1 ± 3,0 % (Tab. II).

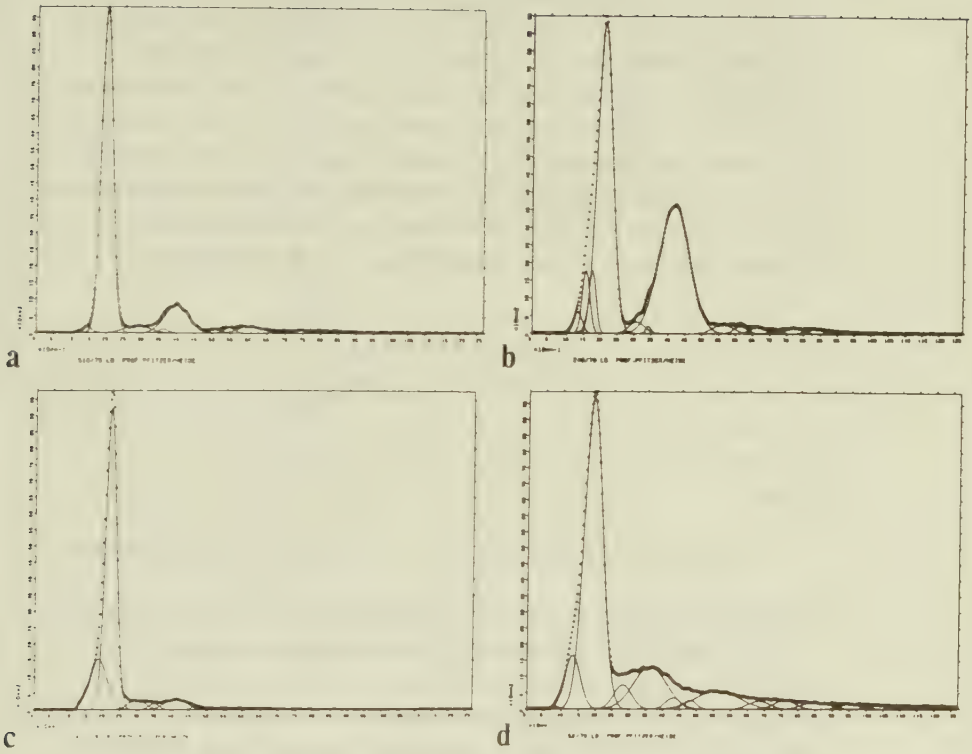


Abb. 9a-d. Durch Computeranalyse approximierte ICP-Histogramme des Lebergewebes von 4 Patienten.

Ein weiteres Phänomen, das bei dem postmortalen Material schwierig zu interpretieren ist, ist die Tatsache, daß die einzelnen Kurven unterschiedlich breite Streuungen aufwiesen (Abb. 9a, d); die Variationskoeffizienten der 2C-Gipfel schwankten zwischen 6,3 % und 20,7 %, der Durchschnitt betrug 11,4 %. Dabei streuten die 2C-Gipfel der Kurven mit gleichzeitig überdurchschnittlich hohen 4C-Gipfeln im Durchschnitt etwas breiter als die 2C-Gipfel der Kurven mit 4C-Anteilen unterhalb des Durchschnitts von 18,6 % (Tab. III); die Differenz der Variationskoeffizienten ist statistisch signifikant ($p < 0,005$).

	Variationskoeffizient
4C > 18,6 %	12,6 ± 3,2 %
4C < 18,6 %	9,8 ± 2,3 %
Gesamt	11,4 ± 4,3 %

Tab. III. Streuung der 2C-Gipfel in den ICP-Histogrammen

Als Erklärung dafür könnte eine für die breitere Streuung verantwortliche, höhere DNA-Syntheserate der höher polyploiden Lebern diskutiert werden, zumal in den Histogrammen solcher Lebern auch die Senke zwischen den 2C-und 4C-Gipfeln, die den S-Phase-Kernen entspricht, höher war als normalerweise (Abb. 9d).
Natürlich muß daneben auch an degenerative Veränderungen der Zellkerne gedacht werden, die stärkere Schwankungen des Farbstoffbindungsvermögens verursacht haben könnten, jedoch war der Anteil des DNA-Schuttes in diesen Fällen nicht überdurchschnittlich erhöht. Theoretisch ist die breitere Streuung auch durch eine Zunahme aneuploider Zellen auf Grund von Chromosomenfehlverteilungen zu erklären, wie dies von JACOBS et al. für das höhere Lebensalter vermutet wurde (1961; 1963).

Der prozentuale Anteil des DNA-Schuttes, der näherungsweise durch den Flächeninhalt der subtrahierten Hyperbel bestimmt werden konnte, war von Fall zu Fall sehr unterschiedlich: er lag zwischen 5 % und 90 % und betrug durchschnittlich 34 ± 23 %. Tab. IV zeigt, daß Fälle mit überdurchschnittlich viel DNA-Schutt, d.h. einem Schutt-Anteil von über 34 %, einen niedrigeren Prozentsatz polyploider Kerne aufweisen als Fälle mit wenig Schutt. Das stützt die oben geäußerte Vermutung, daß polyploide Kerne eher durch Nekrose oder Autolyse degenerieren können als diploide.

	% 4C	% (6C + 8C)
22 Fälle mit mehr als 34 % DNA-Schutt	15,6 ± 5,4	4,1 ± 4,2
28 Fälle mit weniger als 34 % DNA-Schutt	21,0 ± 6,0	10,2 ± 5,5
	$p < 0,005$	$p < 0,0005$

Tab. IV. Der Anteil polyploider Kerne in Abhängigkeit von der Menge des DNA-Schuttes.

Der Anteil hypodiploider Zellkerne schwankte zwischen 0 % und 40 % und lag im Durchschnitt bei 8,1 ± 8,5 %, wobei allerdings in den meisten Fällen die Gipfel im hypodiploiden Bereich nur durch die Computeranalyse aufgezeigt werden konnten. Entsprechend der oben diskutierten Erklärung für diese Gipfel durch vermindert anfärbbare Lysekerne müßte man eine Abhängigkeit des Prozentsatzes hypodiploider Kerne von der Menge des DNA-Schuttes erwarten. Tatsächlich zeigt sich mit einer statistischen Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,0005$, daß die Kurven mit einem überdurchschnittlich hohen Anteil an DNA-Schutt einen weitaus höheren Prozentsatz hypodiploider Kerne aufweisen als die anderen Kurven (s. Tab. V):

Prozentsatz des DNA-Schuttes	Prozentsatz hypodiploider Zellkerne
< 34	4,5 ± 3,6
> 34	13,5 ± 10,3
Gesamtkollektiv	8,1 ± 8,5

Tab. V. Der Anteil hypodiploider Zellkerne in Abhängigkeit von der Menge des DNA-Schuttes

3.1.3. Vergleich der Messergebnisse

Was es an Übereinstimmungen zwischen beiden Meßverfahren gab, wurde bereits im vorigen Kapitel aufgezeigt; hier sollen die Differenzen erwähnt werden. Vergleicht man die durch die beiden Methoden erhaltenen Meßergebnisse, so zeigt sich, daß keine Beziehung besteht zwischen dem Vorliegen hoher 4C-Gipfel in den ICP-Histogrammen und der Häufigkeit des Vorkommens polyploider Leberzellkerne, die selektiv mit dem SMP erfaßt wurden. Beispielsweise fand sich in einem Fall im ICP-Histogramm ein äußerst niedriger 4C-Gipfel (Abb. 9c), wogegen mit dem SMP sehr viele 16C-und sogar 32C-Kerne gemessen werden konnten (Abb. 2d). In einem anderen Fall mit einem extrem hohen 4C-Gipfel im ICP (Abb. 9b) fanden sich in den FEULGEN-gefärbten Ausstrichen nur drei 16C-Kerne als höchste Ploidiestufe; es waren allerdings mikroskopisch viele Paare von 2C-Kernen zu sehen, die oft noch durch Chromatinbrücken verbunden waren. Sie wurden vom ICP wohl meist als 4C-Kerne miterfaßt und stellen eine Erklärungsmöglichkeit dar für den in der Regel höheren Prozentsatz an 4C-Kernen in den ICP-Histogrammen. Entsprechend beschrieben DIGENES und BOLUND (1979) an in gleicher Weise präparierten Mäuseleberzellen, daß sogenannte zweikernige Zellen meist durch pepsinre-

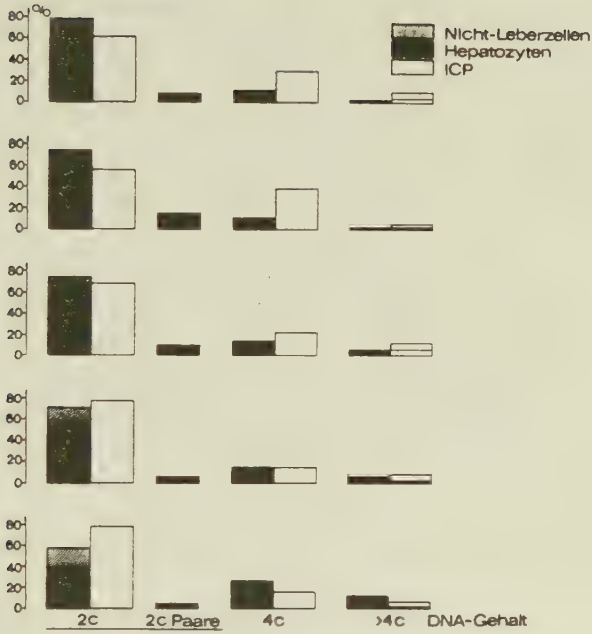


Abb. 1o. Vergleich der Ergebnisse, erhalten durch Impulscytophotometrie und durch mikroskopische Klassifizierung von je 1000 Zellkernen des Lebergewebes von 5 Patienten.

sistente Filamente zusammengehalten werden. Zur Verdeutlichung dieser Beobachtungen wurden in 10 der 51 Fälle je 1000 Zellkerne mikroskopisch klassifiziert, wobei die Leber- und die Nicht-Leberzellkerne unterschieden und ferner die 2C-Paare gesondert klassifiziert wurden. Es zeigten sich zum Teil deutliche Unterschiede zu den ICP-Histogrammen, für die man in erster Linie methodische Mängel verantwortlich machen muß. Abbildung 10 zeigt einige Fälle exemplarisch auf.
Die Differenzen lassen sich jedoch nicht in allen Fällen dadurch beseitigen, daß man die Anteile an 2C-Kernpaaren zum 4C-Gipfel addiert. Unerklärlich erscheint zum Beispiel, wenn mit dem ICP 10 % weniger 4C-Kerne erfaßt wurden als bei der mikroskopischen Klassifizierung (Abb. 10, letztes Beispiel). Es könnte vermutet werden, daß bei der Herstellung der Zellsuspension aus dem blutreichen Lebergewebe sehr viele Leukozyten miterfaßt wurden und den Anteil diploider Kerne so stark vermehrt haben. Hierfür liegen jedoch keine Anhaltspunkte in der Histologie vor.

3.1.4. Beziehungen zu pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunden

Von unseren Ergebnissen ließ sich eine Korrelation weder zur Höhe des Lebergewichtes noch zu Befunden an der Leber wie Fibrose, Verfettung und chronischer Blutstauung herstellen. Nur die 6 Fälle mit Leberzirrhose hatten mit 22,5 % einen signifikant erhöhten 4C-Anteil ($p < 0,1$) und mit 8,8 % auch einen erhöhten 8C-Anteil. Ferner hatten die zwölf Lebern, bei denen eine braune Atrophie diagnostiziert wurde (Tab. VI), in den ICP-Histogrammen einen überdurchschnittlich hohen Anteil von 4C-, 6C- und von 8C-Kernen. Dieser Befund war statistisch signifikant, sowohl für die 4C- ($p < 0,1$) als auch für die 6C- und 8C-Kerne ($p < 0,01$):

	% 4C	% (6C + 8C)
12 Fälle mit Brauner Atrophie	21,2 ± 7,4	11,0 ± 7,6
Die übrigen 38 Fälle	17,8 ± 5,8	6,4 ± 4,7
Gesamt	18,6 ± 6,2	7,5 ± 5,8

Tab. VI. Braune Atrophie der Leber und Polyploidie

Weiterhin fanden sich bei den Lebern mit einem hohen Anteil an DNA-Schutt - wie zu erwarten - mehrere Nekroseareale in den histologischen Präparaten, zum Teil in Form typischer Schocknekrosen: das unterstreicht die oben geäußerte Vermutung, daß für die Entstehung des DNA-Schuttes auch prämortale Veränderungen mitverantwortlich sind.

3.2. Schilddrüse

3.2.1. Ergebnisse der selektiven DNA-Messungen

Die Schilddrüse ist als ein nur fakultativ polyploides Organ bekannt (GILBERT und PFITZER, 1977). Dementsprechend fand sich in allen 51 Fallen eine stark dominierende Fraktion diploider Zellkerne und nur ein geringer Anteil von 4C-Kernen (Abb. 11a). Höher polyploide Kerne konnten - im Gegensatz zur Leber - nur ganz vereinzelt gefunden werden (Abb. 11b-f). Es bestanden aber zwischen den einzelnen Fällen deutliche Unterschiede in Anzahl und DNA-Gehalt der größten vorkommenden Zellkerne (Abb. 12a). 13 Fälle hatten als größte Kerne der Thyreozyten nur sehr wenige 8C- und einige 4C-Kerne (Abb. 13a), während die übrigen 38 Fälle eine größere Anzahl von 8C-Kernen aufwiesen. In 23 dieser Fälle betrug der DNA-Gehalt der größten Kerne 16C (Abb. 13b), in einem Fall 24C, in 9

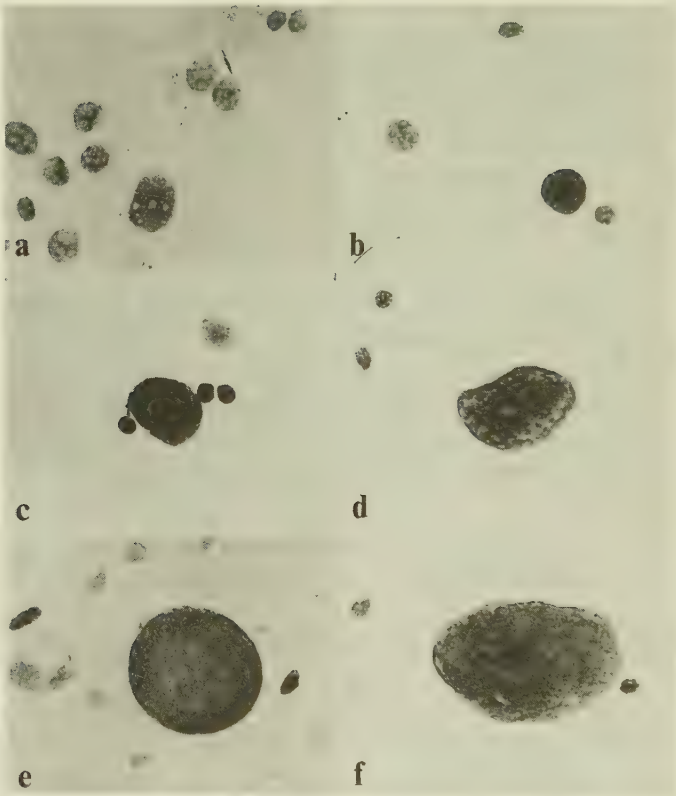


Abb. 11. Zellkerne in Ausstrichpräparaten des Schilddrüsengewebes.
a. Mehrere 2C- und 4C-Kerne sowie ein 8C-Kern.
b. 16C-Kern, daneben zwei 2C- und ein 4C-Kern.
c. 32C-Kern.
d-e. Je ein 64C-Kern.
f. 128C-Kern.
FEULGEN. 600 x.

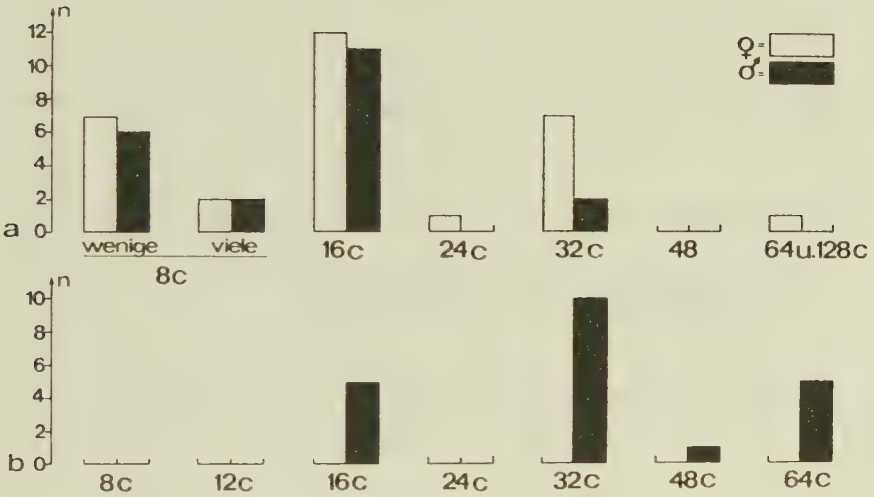


Abb. 12. Ergebnisse der selektiven DNA-Messungen großer Kerne in a. Schilddrüse und b. Samenblasenepithel.

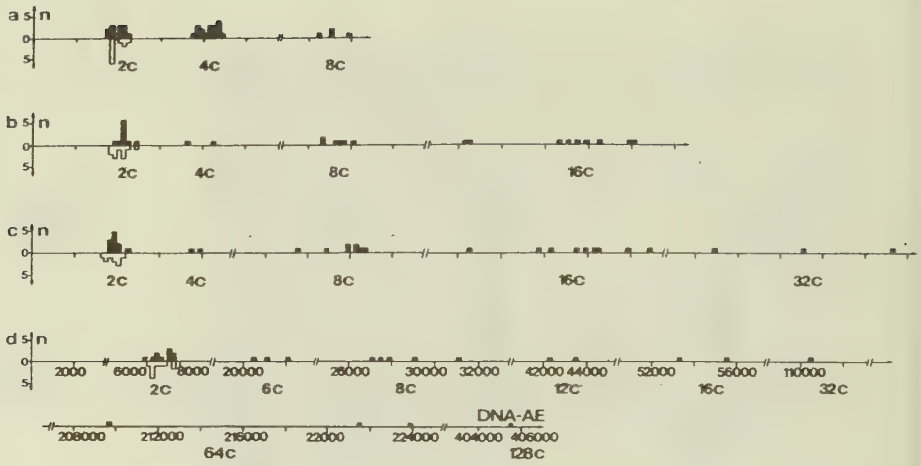


Abb. 13a-d. Selektive Scanning-Histogramme des Schilddrüsengewebes.

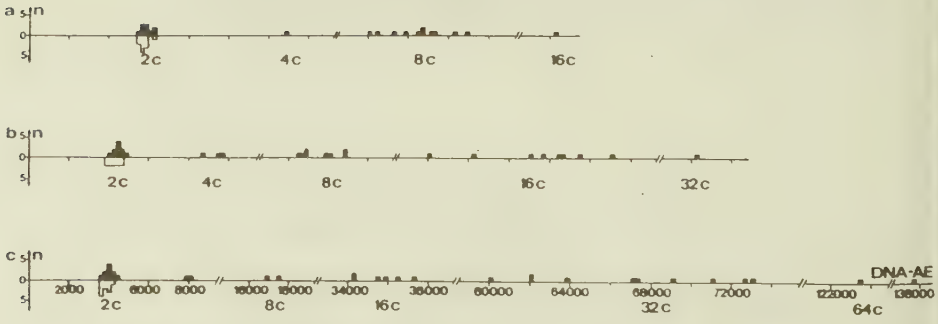


Abb. 14a-c. Selektive Scanning-Histogramme des Samenblasenepithels.

Fällen 32C (Abb. 13c) und in einem Fall 128C (Abb. 13d). Diese hoch polyploiden Zellkerne sind aber als absolute Ausnahmen zu betrachten (Abb. 11c-f).
Bei einem Teil der alten Patienten ließ sich also eine Zunahme polyploider Kerne erkennen, und zwar in deutlicherem Ausmaß, als dies für jüngere Altersklassen beobachtet wurde (GILBERT und PFITZER, 1977; WERNER, 1982). Hinsichtlich des Geschlechts zeigte sich eine annähernd gleiche Verteilung. Der etwas größeren Häufigkeit hoch polyploider Kerne bei den Frauen kann keine statistische Bedeutung beigelegt werden.

Vereinzelt konnten Zwischenstufen wie 6C-, 12C- und 24C-Kerne gemessen werden. Auch in der Schilddrüse kamen - wenn auch seltener als in der Leber - Paare von Kernen gleicher und unterschiedlicher Größe vor. Zellkerne mit Zeichen der Nekrose oder Autolyse wurden jedoch weitaus weniger beobachtet als in den Leberpräparaten.

3.2.2. Beziehungen zu pathologisch-anatomischen und histopathologischen Befunden

Bei den 51 Schilddrüsen konnten in 27 Fällen makroskopisch Zeichen einer Struma nodosa oder diffusa festgestellt werden. Histologisch fanden sich im Alter häufiger zu beobachtende Befunde wie unterschiedlich stark ausgeprägte follikuläre Hyperplasien mit und ohne Kolloidvermehrung, lymphozytäre Infitrate und regressive Veränderungen wie Atrophie oder Degeneration der Follikelepithelien und Fibrose, Hyalinose oder Verkalkung des Zwischengewebes. Zwischen diesen Befunden und den Ergebnissen der DNA-Messungen konnten keine Beziehungen gefunden werden.

3.3. Samenblasenepithel

In den Präparaten vom Epithel der 21 Samenblasen stellten zwar auch die diploiden Kerne die größte Fraktion dar, es fanden sich aber weitaus mehr hoch polyploide Zelkerne als in Leber und Schilddrüse. Die Kerne mit dem höchsten DNA-Gehalt wurden in 5 Fällen durch 16C-Kerne (Abb. 14a), in 10 Fällen durch 32C-Kerne (Abb. 14b, 15a), in einem Fall durch 48C-Kerne und in 5 Fällen durch 64C-Kerne dargestellt (Abb. 14c, 15c, d). Es lagen also im Grad der Polyploidisierung größere interindividuelle Unterschiede vor (Abb. 12b). Die Zahl polyploider Kerne war in den Fällen mit 64C als höchster Ploidiestufe natürlich sehr viel höher als in denen mit 16C als Maximalwert.

Auch in den Samenblasen-Präparaten konnten Zwischenstufen wie 12C-, 24C- und 48C-Kerne gemessen werden. Ferner fanden sich auch hier gleiche und ungleiche Paare von Kernen, die zum Teil noch durch Chromatinbrücken verbunden waren (Abb. 15d, f; PFITZER, 1971). Einzelne hoch polyploide Kerne zeigten knospenförmige Karyoplasma-Ausstülpungen nach außen, die ungefähr die Größe von diploiden Kernen hatten (Abb. 15e), außerdem sah man verschiedene bizarre Kernformen und Kerne mit Zytoplasmainklusionen. Als Entstehungsmechanismus kann man eine Restitutionskernbildung bei mehr oder weniger ausgeprägter Insuffizienz des mitotischen Spindelapparates annehmen (MÜLLER et al., 1973). Die Zytoplasma-Inklusionen könnten nach MÜLLER während der mitotischen Verschmelzung der Teilungsfiguren entstanden sein. Anzeichen für Nekrose der Zellkerne wie Pyknose oder Karyolyse waren einerseits etwas häufiger zu sehen als in den Schilddrüsen-Präparaten, besonders bei den größten Kernen, andererseits aber doch weitaus seltener als in den Leber-Präparaten.

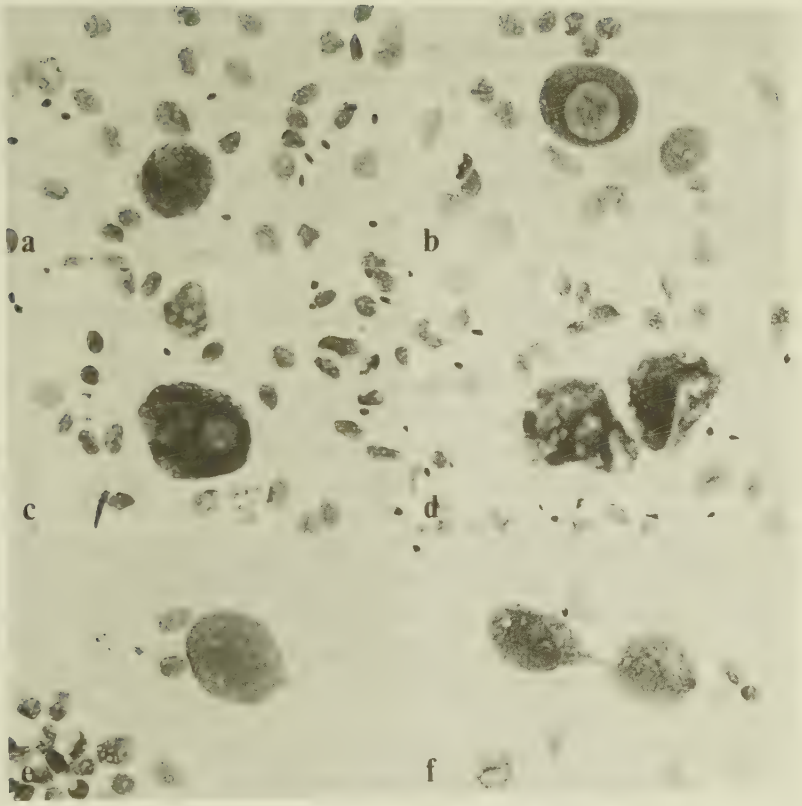


Abb. 15. Zellkerne in Ausstrichpräparaten des Samenblasenepithels.
a. 32C-Kern, daneben 2C- und 4C-Kerne sowie Spermien.
b. 32C-Kern mit Vakuole bzw. Zytoplasmainklusion, rechts unterhalb davon ein 8C-Kern.
c-d. 64C-Kerne, links ein einzelner, rechts ein Paar.
e. 32C-Kern mit Karyoplasma-Ausstülpung von der Größe eines 2C-Kernes.
f. Zwei 32C-Kerne, durch eine Karyoplasmabrücke verbunden.
FEULGEN. 600 x.

Als einzige histopathologische Befunde ließen sich in den Samenblasen häufig regressive Veränderungen wie Lipofuszingranula in den Epithelien und eine mehr oder minder stark ausgeprägte Fibrose der Wand feststellen, wobei aber keine Beziehung zur Polyploidie der Epithelzellkerne zu erkennen war. Sicher ist jedoch, daß in den meisten der von uns untersuchten Fälle die Polyploidie der Zellkerne höher war, als dies bei jüngeren Altersklassen beobachtet wurde (MOHR et al., 1974).

3.4. Vergleich der Ergebnisse in den verschiedenen Organen

Von den drei untersuchten Organen wies das obligat polyploide Organ Leber selbstverständlich den größten Anteil an polyploiden Zellkernen auf, der jedoch mit durchschnittlich 26,1 % deutlich unterhalb des entsprechenden Wertes im ebenfalls obligat polyploiden Herzmuskel derselben Patienten lag (ROSENBERG und PFITZER, 1982). Es konnte kein Zusammenhang gefunden werden zwischen den Ergebnissen der quantitativen DNA-Messungen in der Leber und im Herzmuskel, weder für den linken noch für den rechten Ventrikel.

Bei den selektiven DNA-Messungen in den beiden fakultativ polyploiden Organen Schilddrüse und Samenblase fanden sich im Samenblasenepithel weitaus mehr hoch polyploide Zellkerne. Kerne mit einem DNA-Gehalt von 32C und 64C beinhaltete das Samenblasenepithel sogar in größerer Häufigkeit als die Leber.

Da bei allen Organen beträchtliche interindividuelle Schwankungen vorkamen, stellte sich die Frage, ob das Ausmaß der Polyploidisierung sich von Fall zu Fall in allen drei Organen gleichsinnig veränderte und somit vielleicht durch übergeordnete systemische Faktoren wie zum Beispiel Hormone bedingt sein könnte. Vergleicht man

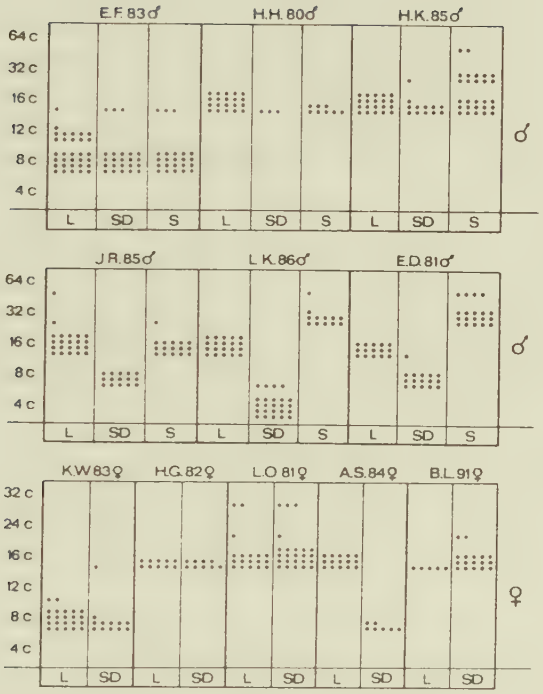


Abb. 16. Vergleich der DNA-Höchstwerte aus den Scanning-Histogrammen in den verschiedenen Organen mit z.T. gleich, z.T. unterschiedlich hohen Ploidiestufen.

die Ergebnisse der SMP-Messungen miteinander, so findet sich in etwa einem Drittel der Fälle eine gleichsinnig hohe oder niedrige Polyploidisierung aller drei Organe eines Falles, bei den übrigen zwei Dritteln zeigen sich aber meist deutliche Abweichungen in mindestens einem Organ (Abbildung 16). Ein gleichgerichteter Einfluß systemischer Faktoren auf die Polyploidie in allen drei Organen läßt sich also - abgesehen vom Einfluß des Alters - durch unsere Ergebnisse nicht bestätigen.

3.5 Einflüße von Hauptleiden und Todesursachen der Patienten auf die Polyploidie der Zellkerne

Als Hauptleiden der 51 Patienten wurden in 38 Fällen chronische Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems diagnostiziert, wovon die häufigste in 28 Fällen die schwere allgemeine Arteriosklerose war, zum Teil mit Coronararteriensklerose. Ferner stellte man in 11 Fällen einen malignen Tumor, in 5 Fällen eine klinisch manifeste Lebererkrankung und in 4 Fällen eine chronische Entzündung als Hauptleiden fest.

Für eine Einflußnahme der vorliegenden Erkrankungen auf die Polyploidie der Zellkerne in den von uns untersuchten Organen fanden wir keine sicheren Anhaltspunkte. Lediglich die 10 Fälle mit malignen Tumoren hatten in der Leber mit 21,8 ± 5,0 % im Durchschnitt einen geringgradig höheren Anteil von 4C-Kernen (statistisch signifikant mit $p < 0,05$) als der Gesamtdurchschnitt. Die geringe Erhöhung des Anteils an 6C- und 8C-Kernen ist statistisch nicht signifikant (Tab. VII).

	% 4C	% (6C + 8C)
10 Fälle mit malignen Tumoren	21,8 ± 5,0	7,7
Die übrigen 40 Fälle	17,8 ± 6,3	7,5
Gesamt	18,6 ± 6,2	7,5

Tab. VII. Anteil polyploider Leberzellkerne bei 10 Tumorpatienten

In Übereinstimmung damit ergab sich bei den SMP-Messungen der Leberpräparate, daß die meisten der 10 Fälle zu den höher polyploidisierten Lebern gehörten, d.h. in Abbildung 3 in der rechten Hälfte des Diagramms zu finden sind. Dabei zeigten die drei Fälle, in denen eine radiologische Therapie des Tumors durchgeführt worden war, keine Abweichungen von den übrigen. Eine zytostatische Therapie war in keinem Fall erfolgt. Die Ergebnisse der DNA-Messungen in Schilddrüse und Samenblasenepithel entsprachen auch bei den 10 Tumorfällen dem Gesamtdurchschnitt.

Interessanterweise konnte auch von den akuten Todesursachen ein Einfluß auf die Polyploidie der Zellkerne festgestellt werden, nämlich bezüglich der 15 Patienten, die durch Kreislaufschock oder protrahiertes Herz-Kreislauf-Versagen, zum Beispiel nach Herzinfarkt oder Lungenembolie, ad exitum gekommen waren. Bei ihnen lag in den Lebern der 4C-Anteil mit 15,9 ± 4,7 % und der 6C- und 8C-Anteil mit 4,9 ± 5,3 % unter dem Gesamtdurchschnitt (Tab. VIII). Dagegen lag der Anteil des DNA-Schuttes mit 52 ± 27 % weit über dem Durchschnitt von 34 %:

	% 4C	% (6C + 8C)	%DNA-Schu
15 Patienten mit Schock oder protrahiertem Herz-Kreislaufversagen als Todesursache	15,9 ± 4,7	4,9 ± 5,3	52 ± 27
Die übrigen 35 Patienten	19,7 ± 6,2	8,6 ± 5,8	25 ± 17
Gesamt	18,6 ± 5,2	7,5 ± 5,8	34 ± 23
	p < 0,025	p < 0,025	p < 0,00

Tab. VIII. Anteil der polyploiden Zellkerne und des DNA-Schuttes in der Leber nach Exitus letalis durch Schock oder protrahiertes Herz-Kreislauf-Versagen

Bezüglich des Betrages der höchsten Ploidiestufen in den selektiven Scanning-Histogrammen ergab sich, daß ca. 80 % der 15 Fälle zu den niedriger polyploiden Lebern gehörten, also im Diagramm von Abbildung 3 in der linken Hälfte zu finden sind. Auch beim Samenblasenepithel gehörten diese 15 Fälle zu denjenigen mit dem niedrigsten Polyploidisierungsgrad, hoch polyploide Kerne wie 32C- und 64C-Kerne fehlten völlig, und auch die 16C-Kerne lagen nur vereinzelt vor. Dagegen bewegten sich die Ergebnisse bei den Schilddrüsen der 15 Patienten im Durchschnittsbereich. Es zeigt sich also, daß in diesen 15 Fällen mit akuter oder chronischer Kreislaufinsuffizienz und daraus folgender mangelhafter O_2-Versorgung der Organe der Anteil hochpolyploider Zellkerne relativ niedrig war, dafür aber ziemlich viel DNA-Schutt vorhanden war. Das spricht für einen raschen Untergang dieser Gruppe von Zellkernen bei akuten Belastungen, wie zum Beispiel schwerer Hypoxie. Auch die sehr hoch polyploiden Zellkerne des Samenblasenepithels

sind davon betroffen, während die Schilddrüse als ohnehin niedrig polyploidisiertes Organ anscheinend gegenüber solchen Veränderungen resistenter ist.

4. DISKUSSION

In der Literatur wurde eine altersabhängige Polyploidisierung der Leberzellkerne im Laufe des menschlichen Lebens zuerst von SWARTZ (1956) beschrieben, der sich allerdings insbesondere mit der Entwicklung in den ersten Lebensdekaden des Menschen beschäftigte. Nach seinen Ergebnissen liegen bis zum 6. Lebensjahr nur diploide Kerne vor, was später von ALTMANN et al. (1966), BARZ et al. (1977) und BRODSKY et al. (1977) bestätigt wurde. Dann folgt eine Zeit gesteigerten Organwachstums, während derer viele Mitosen nachweisbar sind und viele Leberzellkerne, die einen DNA-Gehalt zwischen 2C und 4C haben, sich also in der DNA-Synthesephase befinden. Erst mit der Pubertät zwischen dem 11. und 14. Lebensjahr erscheint eine gesonderte Klasse von tetraploiden Zellkernen. Das läuft zeitlich parallel mit einer schnellen Zunahme des Lebergewichtes, ohne daß dabei eine Steigerung der Mitoserate nachweisbar wäre; das Leberwachstum in dieser Phase scheint also vorwiegend auf einer Polyploidisierung der Zellkerne zu beruhen. Um das 20. Lebensjahr, also zum Zeitpunkt des Wachstumsstops, entwickeln sich als dritte DNA-Klasse die oktoploiden Zellkerne. Diese drei DNA-Klassen bestehen bis zum Ende des Lebens fort, wobei SWARTZ nach dem 50. Lebensjahr keine Zunahme der polyploiden Zellkerne mehr beobachtet hat. Er sieht deshalb die Polyploidisierung nicht als Degenerationszeichen an, sondern eher als alternativen Wachstumsmechanismus eines funktionell stark spezialisierten Organs, der möglicherweise abhängig ist von der Aktivität des Wachstumshormones (BRODSKY, 1977; MENDECKI, 1978). Er vermutet, daß durch die Polyploidisierung zugleich eine bessere Resistenz gegenüber schädlichen Einflüssen der Umgebung vermittelt wird.

1966 zeigten NADAL und ZAYDELA an der Rattenleber den wahrscheinlichen Polyploidisierungsmechanismus auf, der während der normalen Entwicklung des Lebergewebes stattfindet. Sie stellten fest, daß die Zunahme polyploider Zellen zeitlich eng mit der Abnahme zweikerniger Zellen der nächstniedrigeren Ploidiestufe verbunden war. Letztere müssen somit als Zwischenstadium zweier Ploidiestufen betrachtet werden und scheinen unbedingte Voraussetzung für die Polyploidisierung der Leberzellen zu sein. Man stellte sich folgenden Mechanismus vor (Abb. 17):
In der ersten Phase entsteht aus einer diploiden Leberzelle durch Mitose und Acytokinese, also Hemmung der Zellteilung, eine Zelle mit zwei diploiden Kernen. Diese verdoppeln ihren DNA-Gehalt und treten erneut in die Mitose ein. Dabei wird in der Metaphase, möglicherweise auf Grund einer Störung von Reproduktion und Wanderung der Zentriolen, nur eine Teilungsspindel ausgebildet, und die Chromosomen beider Kerne vereinigen sich in einer einzigen Äquatorialebene. Somit entstehen - nach wieder normal abgelaufener Anaphase und Telophase - zwei einkernige tetraploide Tochterzellen. Bisher haben andere Autoren bestätigt (BRODSKY, 1977; EVANS, 1977), daß dieser Mechanismus hauptsächlich verantwortlich ist für die Polyploidisierung der Ratten- und Mäuseleber und unter anderem induziert werden kann durch Teilhepatektomie (DUBOVAIA, 1978) oder Isoprenalin-Behandlung (GERZELI und BARNI, 1976). Inwieweit das für die menschliche Leber zutrifft, muß noch geklärt werden.

Eine weitere Arbeit, die sich mit der Polyploidie der Leberzellen in der gesamten Lebensspanne des Menschen beschäftigt, ist diejenige von BARZ et al. (1977). Er bestätigt einerseits für die ersten Lebensdekaden die Ergebnisse von SWARTZ, beschrieb aber andererseits eine erneute Zunahme polyploider Kerne im hohen Alter; ein besonders deutlicher Anstieg ergab sich zwischen der 7.

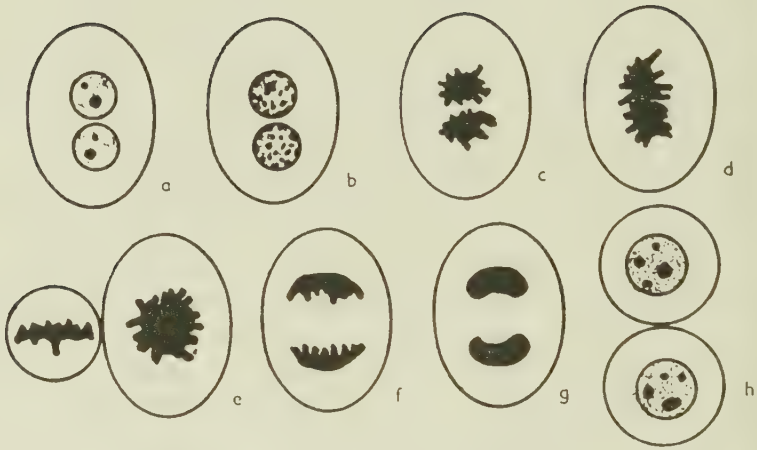


Abb. 17a-h. Schema der Entstehung polyploider Kerne aus zweikernigen Zellen in der Leber (Aus: NADAL und ZAJDELA, 1966).

und 8. Lebensdekade. Er vermutet wie KLINGE (1973), daß die Großkerne in der Altersleber im wesentlichen eine Folge von Mitosestörungen sind, also abortive Mitosen bei ungenügender Funktion des Spindelapparates. Das Fehlen von Großkernen in der ersten Lebensdekade würde nach dieser Interpretation bedeuten, daß Mitosestörungen in dieser Lebensphase noch nicht auftreten.

Aus diesen Ausführungen geht schon hervor, daß in der Literatur die Meinungen über Entstehung und Bedeutung polyploider Kerne z.Zt. noch weit auseinander gehen. WITTSTOCK und KIRCHNER äußerten 1970 die Ansicht, daß die Polyploidisierung unabhängig vom Alter der Zelle eine kompensatorische Antwort der Zelle auf eine gesteigerte funktionelle Leistung darstellt. Als indirekten Beweis dafür läßt sich anführen, daß mit dem DNA-Gehalt des Zellkernes auch der Zelldurchmesser zunimmt und damit das Verhältnis Oberfläche zu Volumen kleiner wird (HARRIS, 1971). Für die polyploide Einzelzelle könnte dies bedeuten, daß sich die Stoffwechselleistung verbessert (PAULINI, 1977). Das wird bestätigt durch zahlreiche Tierversuche, in denen die Leber Belastungen durch Pharmaka oder durch Teilhepatektomie mit einer Zunahme der Polyploidie beantwortet (GERZELI und BARNI, 1976; BRODSKY, 1977; DUBOVAIA, 1977). BÖHM und MOSER (1976) sowie NOLTEMEYER und BÖHM (1978) konnten an der Mäuseleber durch Belastung mit Phenobarbital eine Zunahme von Lebergewicht, Mitoseindex und mittlerem Ploidiegrad induzieren, die 10 Tage nach Sistieren der Noxe wieder völlig reversibel war. Das Ausmaß der Polyploidisierung war deutlich entwicklungsabhängig und hatte ein Maximum bei den drei Monate alten Tieren. Bei älteren Tieren wurde - ausgehend von einem zunehmend höheren physiologischen Ploidieniveau - der Phenobarbitaleffekt geringer. In Verbindung mit den Ergebnissen anderer Autoren nahmen NOLTMEYER und BÖHM eine gesteigerte funktionelle Leistungsbereitschaft der

polyploiden Leberzellen an. Den Rückgang des Ploidiegrades nach Sistieren der Noxe konnten sie nur durch die Annahme einer Elimination der hoch polyploiden Zellen erklären, da während dieser Phase der Mitoseindex nicht erhöht war. Ein Nachweis der Zelluntergänge konnte jedoch nicht geführt werden.

Im Gegensatz zu dieser Auffassung weisen andere Autoren vor allem auf die Zunahme der Polyploidisierung mit steigendem Lebensalter hin und interpretieren diese als Zeichen einer abnehmenden Proliferationsfähigkeit alternder Zellen. Man stützt sich dabei auf analoge Beobachtungen an Zellkulturen; diese hatten einen zeitlichen Zusammenhang ergeben zwischen der Abnahme der Wachstumsrate der Kultur und dem vermehrten Auftreten mehrkerniger Zellen, das von einer Zunahme des Anteils polyploider Zellen gefolgt war (HAYFLICK, 1975; KAJI und MATSUO, 1978; BEHNKE, 1978). Für die Rattenleber zeigten STÖCKER (1978) sowie SHINA und SUGUHARA (1976) die Altersabhängigkeit von Proliferationskinetik und Polyploidisierung deutlich auf. Nach STÖCKER sowie HÜBNER und Mitarbeitern (1975) haben bei alten Tieren viele Leberzellen, besonders läppchenzentral gelegene, ihre Proliferationsbereitschaft verloren und können letztere interessanterweise bei Regenerationsvorgängen, wie zum Beispiel nach Teilhepatektomie, wiedererlangen, was einem Verjüngungsprozeß gleichkommt.

Mit den möglichen Polyploidisierungsmechanismen beschäftigte sich insbesondere BRODSKY in seiner Übersichtsarbeit (1977) über die Beziehung von Zellploidie zu Gewebswachstum und -funktion. Er sieht die Polyploidisierung als Folge inkompletter mitotischer Zyklen. Je nachdem, an welcher Stelle der Ablauf des mitotischen Zyklus blockiert ist, gibt es die unterschiedlichen Mechanismen der Polyploidisierung (Abb. 18). Auch BRODSKY bezeichnet den von NADAL und ZAJDELA dargestellten

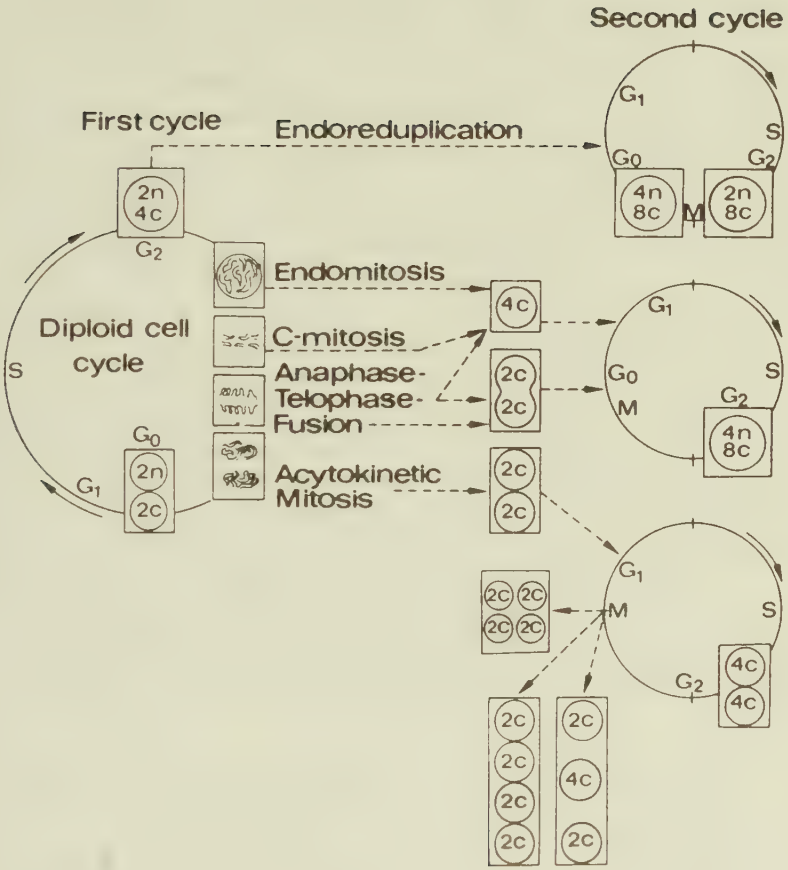


Abb. 18. Zellzyklus mit den möglichen Mechanismen der Genom-Multiplikation. c = haploider DNA-Gehalt, n = haploider Chromosomensatz. (PFITZER nach BRODSKY und URYVAEVA, 1977).

Mechanismus einer Bildung zweikerniger Zellen durch Hemmung der Cytokinese und später Verschmelzung der Teilungsspindeln als typisch für die Leber. Daneben können aber auch andere Blocks im Ablauf der Metaphase und Anaphase eine sogenannte mitotische Polyploidisierung bewirken, wie zum Beispiel c-Mitosen, mono- oder multipolare Mitosen oder eine Fusion in der Telo- oder Anaphase. In ähnlicher Weise verstand PFITZER (1971) polyploide Herzmuskelzellkerne als Restitutionskerne, die aus gehemmten Mitosen und Fusion benachbarter Telophasefiguren entstanden sind. LE BOUTON (1976) beschrieb an der Rattenleber eine Fusion zweier Zellen, die durch Synchronisation der Mitosezyklen und Kernfusion während der Mitose zur Polyploidie führte. Darüberhinaus wurde bei Megakaryozyten eine Fusion der Tochterzellen nach der Mitose beobachtet, von WHEATLY (1972) "Refusion" genannt. Bei einem Block vor Auflösung der Kernmembran kommt es zur Endomitose. Liegt der Block noch früher, also vor Beginn der Mitose, so findet eine Endoreduplikation der Chromosomen statt, die im Falle der Nicht-Trennung der Chromatiden zur Entwicklung polytäner Chromosomen führt. Ob ferner durch eine nur partielle Replikation des Genoms aneuploide Tochterzellen entstehen können, muß vorerst offen bleiben.

Im Gegensatz zu einigen anderen Autoren hält BRODSKY die Polyploidisierung für irreversibel. Er versteht sie jedoch trotz ihrer Altersabhängigkeit nicht als ein qualitatives Zeichen für Gewebsdegeneration, sondern als ein quantitatives Problem im metabolischen Wettbewerb der Zellfunktionen. Denn bezeichnenderweise tritt die Polyploidie besonders in solchen Zellen auf, die viele Proteine synthetisieren, wie z.B. Herz- und Leberzellen, aber auch in den Samenblasenepithelien. Dabei soll es bei konstanter Gesamtproteinsyntheserate mit zunehmender Entwicklung und Differenzierung der spezialisierten Zellfunktionen zu

einer Verdrängung der Reproduktionsfunktion dadurch kommen, daß in der Interphase nicht mehr genügend solche Proteine synthetisiert werden, die die Zelle für die Mitose benötigt (REVICH et al., 1975). Beschleunigt läuft dieser Prozeß dann ab, wenn Wachstumsstimuli wie z.B. Teilhepatektomie die Leber zur Regeneration anregen, und das natürlich besonders im hohen Alter, wo ohnehin eine Verminderung der Zellfunktion gefunden wird. Sicher liegen hier Synchronisationsstörungen im Vergleich zu früheren Entwicklungsabschnitten vor. Warum jedoch andere Gewebe wie z.B. pankreatisches Drüsengewebe nicht betroffen sind, bleibt unklar.

Eine neue Hypothese über die biologische Bedeutung der Leberzellpolyploidie vertrat URYVAEVA (1979): Sie meinte, die Polyploidie schaffe eine Toleranz gegenüber Chromosomenfehlverteilungen, die in mitotischen Leberzellen in hohem Maße vorkämen, und sie vermutete, daß diese die Basis für einige chronische Lebererkrankungen des Menschen darstellen könnten. Das konnte jedoch weder in der Literatur noch in unserer Arbeit bestätigt werden, wenn auch die breitere Streuung der Kurven in Fällen mit hohem Anteil an polyploiden Kernen für das Vorliegen von Chromosomenfehlverteilungen sprechen könnte.

Wie sind nun unsere Ergebnisse einzuordnen? - In der Literatur (BARZ et al., 1977; NOSELT et al., 1976; LEONHARDT, 1974) wird für die Leber des erwachsenen Menschen der Anteil der polyploiden Kerne mit 5 bis 20 % angegeben (Tab. IX):

Literatur:	Prozentsatz polyploider Leberzellkerne
LEONHARDT, 1974	20 % (16 % 4C und 4 % > 4C)
NOSELT et al., 1976	5 - 20 %
BARZ et al., 1977	10 - 20 %
HEIDE, 1982	26 ± 10 %

Tab. IX. Literaturangaben für den durchschnittlichen Prozentsatz polyploider Zellen in der menschlichen Leber

Nach unseren Ergebnissen liegt der Anteil der polyploiden Kerne für über 80-jährige bei 26 ± 10 %, ist also leicht erhöht. Damit können wir bestätigen, daß die Polyploidie der menschlichen Leberzellen auch in späteren Lebensdekaden weiter zunimmt; jedoch besteht - wie auch BARZ festgestellt hat - eine sehr hohe interindividuelle Schwankungsbreite. Dies spricht dafür, daß neben dem Alter auch andere Faktoren die Polyploidisierung beeinflussen, von denen allerdings nur wenige gefunden werden konnten. Einer davon ist die Situation der zirrhotischen Leber mit einem überdurchschnittlich hohen Anteil an polyploiden Kernen, entsprechend den Ergebnissen von NOSELT (1976). Man kann dies am ehesten als Folge des regeneratorischen Wachstums in diesen Lebern und der funktionellen Überlastung der Leberzellen deuten. Interessant ist ferner der höhere Ploidiegrad der Zellen in Lebern mit brauner Atrophie, einer recht typischen Altersveränderung. Entsprechend hat auch LINDNER in seiner Arbeit "Zur Alterung der Organe" (1975) für die menschliche Leber folgende parallel laufende Altersveränderungen beschrieben: Zunahme des Lipofuszingehaltes, Abnahme des relativen und absoluten Lebergewichtes, Abnahme von Induzierbarkeit

und Adaptierbarkeit von Enzymen, Störungen von Translation und Transkription, zunehmende Polyploidie, Heterochromasie und Vakuolenbildung der Zellkerne. Wenn die Polyploidie hier als Zeichen der Regression im Alter dargestellt wird, so bleibt unberücksichtigt, daß sie auch in jungen Organismen auftritt und bei alten Patienten große Schwankungen aufweist. Der erhöhte Ploidiegrad in vielen altersatrophischen Lebern könnte eher so gedeutet werden, daß auch hier eine funktionelle Überlastung der Leberzellen vorliegt und somit Mitosen bei vorhandenem Anreiz zur DNA-Synthese nur eingeschränkt möglich sind. Ähnliches hatten MOUBAYED und PFITZER an altersatrophischen Herzen gefunden (1975). Ein weiterer möglicher Faktor könnte in der O_2-Versorgung liegen. Im Alter kann ein Rückgang des Ploidiegrades bei Hypoxie und Minderdurchblutung der Leber vorkommen, wie aus unseren Fällen mit protrahiertem Herz-Kreislaufversagen hervorgeht, erklärbar eventuell durch eine erhöhte Vulnerabilität polyploider Zellkerne (NOLTEMEYER und BÖHM, 1975).

Zur Frage des Polyploidisierungsmechanismus kann auch von uns die entscheidene Rolle der zweikernigen Zellen bestätigt werden, die in vielen Lebern in einem hohen Prozentsatz gefunden wurden (bis zu 14 %). Zugleich bestätigt ihr Vorkommen, daß auch im hohen Alter Mitosen der Leberzellkerne möglich sind.

Bei der Interpretation unserer Ergebnisse müssen aber noch einige methodenkritische Hinweise berücksichtigt werden: Es wurde bereits erwähnt, wie problematisch die Verwendung von postmortalem Lebermaterial für die Zytophotometrie ist, im Gegensatz zum Herzmuskelgewebe (ADLER und BECKHOVE, 1971). Die Ergebnisse wurden sicherlich verfälscht durch den zum Teil hohen Anteil an autolytischen und nekrotischen Kernen und somit an DNA-Schutt. Unter diesem Blickwinkel sind zum Beispiel die auffallend häufig

vorkommenden hypodiploiden Kerne zu betrachten, die wahrscheinlich eine Degenerationsstufe darstellen und entweder durch einen Verlust der DNA selbst oder durch eine verminderte Farbstoffbindung der DNA-Moleküle bedingt sind. Zwar beschreiben auch andere Autoren (PERA und DETZER, 1975; BARZ et al., 1977, ROSZELL, 1978) besonders für das hohe Alter eine zweite Klasse diploider Leberzellkerne, die wegen Dehydratation und stärkerer Kondensation des Chromatins, also Heterochromatisierung, ein kleineres Volumen, eine dichtere Struktur und eine verminderte Farbstoffbindung aufweisen gegenüber den normalen diploiden Zellkernen, diese Strukturveränderung wurde aber in unseren FEULGEN-gefärbten Ausstrichen der Fälle mikroskopisch nur selten beobachtet. Ferner erscheint es wenig wahrscheinlich, daß die hypodiploiden Kerne durch einen Chromosomenverlust im Alter bedingt sein könnten, wie dies MARTIN, KELLETT und HAHN für alternde Lymphozytenkulturen beschrieben und durch Karyogramme belegt haben (1980). Es dürfte sich somit nach unserer Meinung am ehesten um Artefakte handeln.

Die beiden parallel untersuchten Organe Schilddrüse und Samenblasenepithel gelten als fakultativ polyploide Organe, da nur ein Teil der Fälle betroffen ist (GILBERT und PFITZER, 1977). In der Schilddrüse wurde eine Polyploidisierung besonders in bestimmten Adenomen und nach Hyperthyreose-Behandlung beobachtet (HÄMMERLI, 1970; MEISSNER und WARREN, 1969; COELHO und PFITZER, 1974). Sie kann ein polymorphes Kernbild bedingen, welches aber kein Hinweis für Malignität ist. In unseren und in den Ergebnissen von WERNER (1982) schwankt die höchste Ploidiestufe der einzelnen Schilddrüsen von Fall und Fall zwischen 4C und 64C, es kann jedoch eine Zunahme hoher DNA-Werte mit dem Alter in einem Teil der Fälle festgestellt werden.

Eine Erklärung für die großen interindividuellen Schwankungen auch bei Patienten gleichen Lebensalters konnte bislang nicht gefunden werden.

In den Epithelzellen der menschlichen Samenblasen hatte erstmals LANGERHANS (1874) "enorme Zellkerne" beobachtet und auch HERMES (1893) beschrieb Zellkerne mit "kollossalen Dimensionen". OBERNDORFER (1931) faßte diese Riesenzellkerne als Zeichen der Regeneration des Epithels bei Entzündungen auf, RATHER und ARNOLD (1956) erwogen als Ursache der Riesenkernbildung eine Virusinfektion oder die Einwirkung von Antibiotika; beides ließ sich jedoch bis heute nicht beweisen. WITTSTOCK und KIRCHNER (1970) schließlich sahen das gehäufte Vorkommen von Samenblasenepithelien mit Riesenkernen im höheren Lebensalter und faßten die polymorphen Zellkerne als regressive Veränderungen auf, die mit der Funktionseinschränkung der Samenblasen auftreten. Das wird unterstützt durch die morphologischen Untersuchungen von KUROSAWA (1930), der eine Rückbildung der Samenblase nach dem 30. Lebensjahr beobachtete. Die ersten zytophotometrischen Untersuchungen wurden von MÜLLER et al. (1973) durchgeführt, wobei hoch polyploide Zellkerne mit einem DNA-Gehalt von 32C und auch 64C sowohl bei älteren Patienten als auch bei jungen Unfalltoten nachgewiesen werden konnten. Die Entstehung dieser Kerne mit zum Teil recht bizarren Formen wurde von den Autoren durch die Annahme mehr oder weniger ausgeprägter Störungen von Zyto- und Karyokinese erklärt. MOHR (1974) konnte dann durch quantitative zytophotometrische Untersuchungen ein häufigeres Auftreten hoch polyploider Kerne oberhalb des 30. Lebensjahres, also während des Rückbildungsprozesses der menschlichen Samenblase, nachweisen. Das wurde 1977 von PAULINI et al. bestätigt.

Eine gute Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen zeigen unsere Ergebnisse der selektiven DNA-Messungen im Samenblasenepithel der über 80-jährigen Männer. In 76 % der Fälle war der DNA-Gehalt der größten Kerne mit 32C und 64C auffallend hoch und liegt damit an der oberen Grenze der angegebenen Werte. Die Großkerne lagen in verschiedenartigen, z.T. bizarren Formen vor, aber nur einige wiesen deutliche Degenerationszeichen auf. Warum jedoch gerade das Samenblasenepithel so hoch polyploide Kerne aufweist, ist bis heute nicht geklärt worden. Als mögliche Ursache werden die hormonellen Einflüsse auf die Samenblasenepithelien diskutiert, was jedoch noch nicht bewiesen werden konnte.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich durch unsere parallel durchgeführten Untersuchungen in allen drei Organen für das hohe Alter häufig ein gesteigerter Polyploidisierungsgrad der Zellkerne nachweisen ließ, jedoch fanden sich auch viele Ausnahmen. Die breite Streuung der Ergebnisse weist darauf hin, daß mehrere Faktoren einen Einfluß haben müssen, einige wenige von ihnen konnten wahrscheinlich gemacht werden. Die zum Teil divergierenden Befunde an den Organen desselben Patienten belegen, daß weniger gemeinsamen Faktoren wie z.B. dem Alter, sondern mehr lokalen Bedingungen in den einzelnen Organen die entscheidende Bedeutung für deren Polyploidisierung zukommt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Von 21 männlichen und 30 weiblichen Patienten im Alter von 80 bis 98 Jahren wurden post mortem selektive DNA-Messungen an Tupf- und Ausstrichpräparaten von Leber, Schilddrüse und - bei den männlichen Patienten - Samenblasenepithelien mit dem Scanning-Zytophotometer durchgeführt. In allen Organen stellten die diploiden Kerne die größte Fraktion dar, im Samenblasenepithel fanden sich die meisten hoch polyploiden Zellkerne mit einem DNA-Gehalt von 32C und 64C. In der Leber betrug die höchste Ploidiestufe meist 16C, in der Schilddrüse 8C oder 16C. Es lag in den meisten Fällen ein gesteigerter Ploidiegrad der Zellkerne vor. Alle Organe, jedoch besonders die Leber, wiesen einen großen Anteil an zweikernigen Zellen auf, die wahrscheinlich eine entscheidende Bedeutung als Zwischenstufe im Polyploidisierungsmechanismus haben.

Ferner wurden von den Lebern von 50 der Patienten quantitative DNA-Messungen mit dem Impulszytophotometer durchgeführt. Dabei ergab sich ein durchschnittlicher Prozentsatz von 26,1 ± 10,5 % an polyploiden Kernen, davon waren 18,6 ± 6,2 % tetraploid und 3,1 ± 3,0 oktoploid. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Literaturangaben, so zeigt sich auch hier in der Mehrzahl der Fälle ein gesteigerter Polyploidisierungsgrad im hohen Alter. Bei allen Meßreihen ergaben sich jedoch breite Streuungen sowohl zwischen den Einzelfällen als auch zwischen den einzelnen Organen desselben Patienten. Es müssen also neben dem Alter noch andere Faktoren einen Einfluß auf die Polyploidie der Zellkerne ausüben, von denen nur die folgenden wahrscheinlich gemacht werden konnten: Leberzirrhose, braune Atrophie der Leber, Tumorleiden und protrahiertes Kreislaufversagen mit Hypoxie der Organe. Sonst ließen sich keine Beziehungen nachweisen zwischen

den Ergebnissen der DNA-Messungen und den Krankheiten des Organs. Bei der Auswertung erschwerend war, daß in postmortalem Lebergewebe viele Zellkerne deutliche Degenerationszeichen aufwiesen.

6. LITERATUR

ADLER, C.P.:
DNS-Gehalt und Zellzahl in alten Menschenherzen.
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 328-334 (1975)
ADLER, C.P., BECKHOVE, P.:
Postmortale DNS-Veränderungen im Herzmuskel.
Beitr. Path. 142, 306-320 (1971)
ALTMANN, H.-W., LOESCHKE K., SCHENK, K.:
Über das Karyogramm der menschlichen Leber unter normalen und pathologischen Bedingungen.
Virchows Arch. path. Anat. 341, 85-101 (1966)
ALTMANN, H.-W., HAUBRICH, J.:
Über hepatozelluläre Mitosestörungen und Kerneinschlüsse nach wiederholten Colchicingaben.
Beitr. path. Anat. 131, 355-394 (1965)
ASCHOFF, L.:
Die Arteriosklerose (Arteriopathia deformans). Ein Ernährungs- und Abnutzungsproblem.
Med. Klinik, Beihefte 26 (1), 1-20 (1930)
BARLOGIE, B., GÖHDE, W., DREWINKO, B.:
Flow cytometric analysis of DNA-content for ploidy determination in human solid tumors.
J. Histochem. Cytochem. 27: 505-507 (1979)
BARZ, H., KUNZE, K.D., VOSS K., SIMON H.:
Altersabhängige Veränderungen morphologischer Parameter der Leberzellkerne in Biopsiematerial.
Exp. Path. 14, 55-64 (1977)
BEHNKE:
The Biology of Ageing.
Plenum Press New York, London 1978
BERKHAN, E.:
DNS-Messungen von Zellen aus Vaginalabstrichen.
Ärztl. Lab. 18, 77 (1972)

BÖHM, N., MOSER, B.:
Reversible Hyperplasie und Hypertrophie der Mäuseleber unter funktioneller Belastung mit Phenobarbital.
Beitr. Path. 157, 283-300 (1976)
BRODSKY, W.Ya., Uryvaeva, I.V.:
Cell polyploidy: Its relation to tissue growth and function.
Int. Rev. Cytol. 50, 275-332 (1977)
BÜRGER, M.:
Altern und Krankheit.
3. Aufl. VEB G. Thieme, Leipzig (1957)
COELHO, C.P., PFITZER, P.:
Cytophotometrische Bestimmung des DNS-Gehaltes von Zellkernen verschiedener Tumoren und ihrer Metastasen.
Arch.f.Geschwulstforsch. 43, 217-238 (1974)
CURTIS, H.J., LEITH, J., TILLEY, J.:
Chromosome aberrations in liver cells of dogs of different ages. J. GERONT. 21, 268-270 (1966)
DIGENES, V., BOLUND, L.:
The ploidy classes of adult mouse liver cells. Virchows Arch. B. (Cell Path.) 32, 1-10 (1979)
DUBOVAIA, Tk., KUTS, A.; BRODSKY, I.V.:
Characteristics of the regeneration process in the liver deprived of polyploid hepatocytes. Biull Eksp. Biol. Med. 84, 221-224 (1977)
ECKHARDT, U., VYSKA, K, PFITZER, P.:
Automatic data fit by sums of Gaussians. Erscheint in Cytometry
EVANS, J.:
Polyploidisation in rat liver: The role of binucleate cells. Cytobios. 16, 115-124 (1976)
FAKTOR, V., et al.:
Delay of rat hepatocyte polyploidisation in liver growth inhibition during hypokinesia. Tsitologiia 21, 397-400 (1979)

FRANKE, A.:
Aktuelle Probleme der Gerontologie und Geriatrie. Naturwiss. 61, 150-156 (1974)
GERZELI, G., BARNI, S.:
Changes in liver cell ploidy of young rats following isoprenaline treatment. Cell Tissue Kinet. 9, 267-272 (1976)
GERZELI, G., BARNI, S.:
Modifications in some rat liver cell components following stimulation with isoprenaline (A cytospectrophotometric, microrefractometric and cytoelectrophoretic study). Riv. Istochim.Norm. Patol. 20, 67-88 (1976)
GILBERT, P., PFITZER, P.:
Facultative polyploidy in endocrine tissues.
Virchows Arch. B Cell Path. 25, 233-242 (1977)
GÖHDE, W., DITTRICH, W., ZINSER, K-H., PRIESHOFF, J.:
Impulscytophotometrische Messungen an atypischen Zellabstrichen aus Scheide und Cervix uteri.
Gebursth. u. Frauenheilk. 32, 382-392 (1972)
GORYSCH, H., PFITZER, P.:
Vergleichende Messungen an Ergüssen mit dem Impulscytophotometer und dem Scanning-Mikroskopphotometer. Impulscytophotometrie (Andreeff, M.). Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1975
HAEMMERLI, G.:
Cytophotometrische und cytogenetische Untersuchungen an knotigen Veränderungen der menschlichen Schilddrüse.
Schweiz. med. Woschr. 100, 633-641 (1970)
HARRIS, M.:
Polyploid series of mammalian cells. Exp. Cell Res. 66, 329-336 (1971)
HAYFLICK, L.:
Die zelluläre Basis biologischen Alterns.
Verh.Dt.Ges. Path. 59, 52-66 (1975)

HERMES, R.:
Die Epithelverhältnisse in den Ausführungsgängen der männlichen Geschlechtsdrüsen.
Dissert. Rostock, 1893, zit. nach PETERSEN, O.V.C.E:
Anat.Hefte 34, 239 (1907)
HORT, W.:
Das Herz des alternden Menschen.
Perimed-Verlag, Dr. D. Straube, Hrsg. J. Schmidt und E. Lang, Erlangen (1971)
HÜBNER, K., HAUK, H., SCHNEIDER, M., USADEL, K.-H., SCHWEDES, D.:
Experimentelle Untersuchungen über die STH-stimulierte DNS-Synthese während des Alterns.
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 281-285 (1975)
JACOBS, P.A., COURT BROWN, W.M., DOLL, R.:
Distribution of human chromosome counts in relation to age. Nature 191, 1178-80 (1961)
JACOBS, P.A. et al.:
Change of human chromosome count distributions with age: evidence for a sex difference.
Nature 197, 1080-1081 (1963)
KAJI, K., MATSUO, M.:
Aging of chick embryo fibroblasts in vitro.
Exp. Cell Res. 119, 231-236 (1979)
KLINGE, O.:
Altersabhängige Beeinträchtigung der Zellvermehrung in der regenerierenden Rattenleber.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 1, 342-345 (1968)
KLINGE, O.:
Kernveränderungen und Kernteilungsstörungen in der Altersleber.
Gerontologia 19, 314-329 (1973)
KUROSAWA, T.:
Beitrag zur Pathologie der Samenblase.
Virchows Arch. 274, 594-605 (1930)

LANGERHANS, P.:
Über die accessorischen Drüsen der Geschlechtsorgane.
Arch. Path. Anat. Physiol. (Virchows Arch.) 61, 208-228 (1874)
LE BOUTON, A.V.:
DNA-synthesis and cell proliferation in the simple liver acinus of 10- to 20-day-old rats; evidence for cell fusion.
Anat. Rec. 184, 679-687 (1976)
LEEUW-ISRAEL, F.:
Ploidy as a possible explanation for the variation in the liver function during the life span of the rat. Z.Alternsforsch. 26, 29-33 (1972)
LEONHARDT, H.:
Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen.
4. Aufl., S. 371, Georg Thieme Verl. Stuttgart (1974)
LINDNER, J.:
Zur Alterung der Organe.
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 181-242 (1975)
LINZBACH, A.J.:
Altern und Krankheit. Ableitung einer neuen Alternstheorie auf der Grundlage der Polypathie.
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 242-251 (1975)
MARTIN, J.M., KELLETT, J.M., HAHN, J.:
Aneuploidy in cultured human lymphocytes: age and sex differences. Age and Ageing 9, 147-153 (1980)
MEISSNER, W.A., WARREN, S.:
Tumors of the thyroid glaud.
Bethesda, Maryland: Armed Forces Institute of Pathology 1969
MENDECKI, J. et al.:
Effect of thyroid hormone on the ploidy of rat liver nuclei as determined by flow-cytometry.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 158, 63 ff. (1978)

MOHR, W., KESENHEIMER, M., BENEKE, G.:
Altersabhängige Polyploidisierung der Zellkerne menschlicher Samenblasenepithelien.
Beitr. Path. 151, 331-343 (1974)
MOUBAYED, P.A., PFITZER, P.:
DNS-Gehalt und Zahl der Kerne in den myokardialen Zellen atrophischer Herzen.
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 338-340 (1975)
MÜLLER, H.-A., DIEMER, H., v.KIETZELL, R.:
Polyploide Großkerne im menschlichen Samenblasenepithel.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 12, 281-284 (1973)
NADAL, C., Zajdela, F.:
Polyploidie somatique dans le foi de rat.
Exp. Cell Res. 42, 99-116 (1966)
NOLTEMEYER, M., BÖHM, N.:
Altersabhängigkeit der Phenobarbital - induzierten reversiblen Polyploidisierung der Hepatocyten der Hausmaus.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 62, 470 (1978)
NOSELT, A., FRENI, S., ORTLEP, F.:
Quantitative histological aspects of liver cirrhosis.
Beitr. Pathol. 159, 195-206 (1976)
OBERNDORFER, S:
Samenblasen. In Henke u. Lubarsch: Handbuch der spez. Patholog. Anatomie und Histologie VI, Teil 3, S. 534, Springer Verlag, Berlin (1931)
ORGEL, L.E.:
The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging: a correction.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 67, 1476 (1970)
ORGEL, L.E.:
Aging of clones of mammalian cells. Nature 243, 441-445 (1973)
PAULINI, K., SONNTAG, W.:
Polyploidisierung - ein Altersphänomen?
AKt. Gerontol. 7, 521-527 (1977)

PERA, F., DETZER, K.:
Heteropyknosis of the chromosomes in liver cells of different ploidy: a nuclear image study.
Beitr. Pathol. 156, 145-154 (1975)
PFITZER, P.:
Nuclear DNA-content of human myocardial cells.
Current Topics Path. 54, 125-168 (1971)
PFITZER, P.:
Polyploide Zellkerne im Herzmuskel des Schweins.
Virch. Arch. Abt. B Zellpath. 9, 180-186 (1971)
PFITZER, P.:
Analysis of tumor cell populations by DNA cytophotometry.
Erscheinen in Nieburgs, Prevention and detection of cancer. Marcell Decker, New York, 1978
PFITZER, P., CAPURSO, A.:
Der DNS-Gehalt der Zellkerne im Herzohr des Menschen.
Vierchows Arch. Abt. B 5, 254-267 (1970)
PFITZER, P., KREIDLER, J., WESTENBERGER, S., SCHALBRUCH, R.:
Concordance and discrepancy between pulse- and scanning-cytophotometry of nuclear DNA. Proceed. IIIrd internat. Symp. Pulscytophotometry.
Gent: European Press 1977
PFITZER, P., PAPE, H.D.:
Investigation of DNA-content of leucoplacia cells of oral mucosa.
J. max.-fac. Surg. 3, 119-124 (1975)
PFITZER, P., VYSKA, K., STECHER, G.:
Zur Analyse von DNA-Histogrammen durch Computer.
Beitr. Path. 587, 157-185 (1976)
PLATT, D., LASCH, H.G.:
Molekulare und zelluläre Aspekte des Alterns (1. Giessener Symp. exp. Gerontologie, 1971).
Stuttgart/New York: F.K. Schattauer 1971

RATHER, L.J., ARNOLD, S.:
Über eine bisher nicht beschriebene Veränderung der menschlichen Samenblasen.
Frankf. Z. Path. 67, 587-591 (1956)
REVICH, G., SAVINA, M., TUGONOV, R.:
Changes in the content of different nuclear proteins and DNA from diploid and polyploid hepatocytes in regenerating liver of mice.
Biokhimiica 40, 790-874 (1975)
ROSENBERG, B., PFITZER, P.:
Ploidy in the hearts of elder patients.
Erscheint in Virchows Arch. Abt. B Zellpathologie.
ROSSMANN, J.:
Clinical geriatrics.
Philadelphia-Toronto: Lippincott 1971
ROSZELL, J.:
The development of polyploidy in two classes of rat liver nuclei.
Biochim Biophys Acta 519 : 306-316 (1978)
RUSSELL, E.S.:
Genes and Aging.
The Biology of Aging, p. 235 (1978)
SANDRITTER, W., SCOMAZZONI, G.:
Desoxyribonucleic acid content (FEULGEN photometry) and dry weight (Interference microscopy) of normal and hypertrophical heart muscle fibres.
Nature (Lond.) 202, 100-101 (1964)
SCHMIDT, W., BENEKE, G.:
Die Bindegewebsproliferation in Abhängigkeit vom Lebensalter. II. Untersuchung der Wachstumsrate der Bindegewebszellen.
Beitr. Pathol. 144, 201-210 (1971)
SCHRADER, H.L.:
Der Mensch wird umgebaut.
Berlin: Ullstein 1971

SHIMA, A., EGANU, N.:
Absence of systematic polyploidization of hepatocyte during the ageing process of the male Medaka, oryzias latipes.
Exp. Geront. 13, 51-55 (1978)
SHIMA, A., SUGUHARA, T.:
Age dependent ploidy class changes in mouse hepatocyte nuclei as revealed by FEULGEN-DNA-cytofluorometry.
Exp. Geront. 11, 193-203 (1976)
SPRENGER, E., RÖVER, J., WAGNER, D., SANDRITTER, W.:
Probleme bei der durchflußzytophotometrischen Erfassung atypischer Cervixepithelien nach DNS-Fluorochromierung mit Ethidiumbromid.
Beitr. Path. 148, 141 (1973)
STECHER, G., BLOEMERTZ, H., PFITZER, P.:
Sarkom 180: Wachstum und Regression. Vergleichende Messungen mit dem Impuls- und Scanning-Cytophotometer sowie histologische, cytologische und autoradiographische Untersuchungen.
Beitr. Path. 158, 255-286 (1976)
STÖCKER, E. et al.:
Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte. Autoradiographische Untersuchungen mit 3H-Thymidin.
Z.Zellforsch. 125, 306-331 (1972)
STÖCKER, E.:
Altersabhängige Proliferationskinetik in parenchymatösen Organen von Ratten.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 59, 78-94 (1975)
STÖCKER, E.; TEUBNER, G., ROSENBUSCH, G.:
Die DNS-Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 48, 295-299 (1964)
SWARTZ, F.J.:
The development in the human liver of multiple desoxyribose nucleic acid (DNA) classes and relationship to the age of the individual.

Chromosoma 8, 53-72 (1956)
SWIFT, H.:
The desoxyribose nucleic acid content of animal nuclei.
Physiologic. Zoolog. 23, 169-198 (1950)
THOMPSON, K.V.A., HOLLIDAY, R.:
The longevity of diploid and polyploid human fibroblasts. Evidence against the somatic mutation theory of cellular ageing.
Exp. Cell Res. 112, 281-287 (1978)
URYVAEVA, I.V.:
Polyploidizing mitoses and the biological meaning of polyploidy in liver cells.
Tsitologiia 21, 1427-1437 (1979)
VYSKA, K., PFITZER, P., KRAUSHAAR, J.:
Computeranalyse von DNA-Histogrammen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 61, 479 (1977)
WERNER, H.:
Fakultative Polyploidie der Schilddrüse; ein Grund für Polymorphie.
Dissertatin in Bearbeitung. Medizinische Fakultät der Universität Düsseldorf.
WHEALTLEY, D.:
Binucleation in mammalian liver. Studies on the control cytokinesis in vivo.
Exp. Cell. Res. 74, 455-465 (1972)
WITTSTOCK, G., KIRCHNER, J.:
Biomorphose der Samenblasen unter besonderer Berücksichtigung der chronischen Spermatocystitis.
Virchows Arch. Abt. A 351, 12-20 (1970)
ZAHN, R.K., MÜLLER, W.E.G.:
Altersabhängige Veränderungen an informationstragenden Makromolekülen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 59, 3-20 (1975).

D A N K S A G U N G

Herrn Prof. Dr. W. Hort danke ich für den im Pathologischen Institut freundlicherweise zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz.

Herrn Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer möchte ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei Planung und Durchführung der Arbeit meinen besonderen Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. K. Vyska (Institut für Medizin der Kernforschungsanlage Julich) danke ich für die Durchführung der statistischen Computer-Analyse der DNA-Histogramme.

Mein besonderer Dank gilt auch der Paul-Kuth-Stiftung für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

Frau Biesemann, Frau König und Frau Marzahn sage ich herzlichen Dank für ihre Hilfe beim praktischen Teil der Arbeit, ebenso Frau Piepenbrock und Frau Bentele für die Anfertigung der Zeichnungen und Photographien.

L E B E N S L A U F

Am o5. Juli 1956 wurde ich als Sohn des Dr. Helmut Heide, Facharzt für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde und seiner Frau Charlotte, geb. Simon, in München geboren. Im Jahre 1958 zogen wir nach Siegen/Westfalen.

Von April 1963 bis November 1966 besuchte ich in Siegen die Grundschule und ab Dezember 1966 das Städtische Gymnasium Siegen am Löhrtor, wo ich im Juni 1975 die Reifeprüfung bestand.

Im Oktober 1975 begann ich an der Universität Düsseldorf das Studium der Allgemeinen Medizin, bestand dort 1977 die Ärztliche Vorprüfung, 1978 den Ersten Abschnitt und 1980 den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Von Oktober 1980 bis September 1981 war ich im Praktischen Jahr im Evangelischen Krankenhaus Bethesda zu Duisburg tätig, wo ich Ende Oktober 1981 den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand.

Seit Dezember 1981 arbeite ich als Assistenzarzt an der Neurologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Siegen/ Haus Hüttental.

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353